



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH BAKTERI *Pediococcus pentosaceus* ISOLAT DADIH  
TERHADAP KADAR TNF-a PADA INFLAMASI JARINGAN  
PERIODONTAL YANG DIINDUKSI BAKTERI  
*Porphyromonas gingivalis***

**SKRIPSI**



**CORRINA HEPARTI NOVSYAMI  
1110342032**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2015**



HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH BAKTERI *Pediococcus pentosaceus* ISOLAT  
DADIH TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  PADA INFLAMASI  
JARINGAN PERIODONTAL YANG DIINDUKSI BAKTERI  
*Porphyromonas gingivalis***

Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats*

Oleh

**CORRINA HEPARTI NOVSYIAMI**

**NIM : 1110342032**

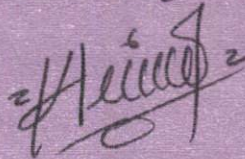
Skripsi ini telah disetujui dan diperiksa oleh Pembimbing Skripsi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas

Padang, 24 April 2015

Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed  
NIP. 197207202000122002

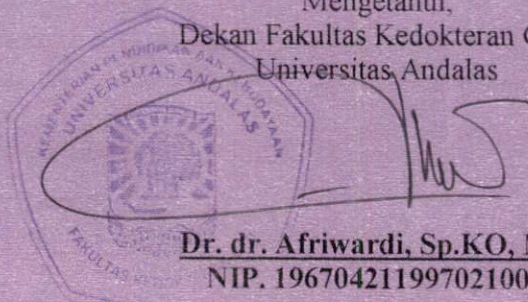
Pembimbing II



drg. Aida Fitriana, M.Biomed  
NIP. 197709212005012002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Andalas



Dr. dr. Afriwardi, Sp.KO, MA  
NIP. 196704211997021001



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

**PENGARUH BAKTERI *Pediococcus pentosaceus* ISOLAT  
DADIH TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  PADA INFLAMASI  
JARINGAN PERIODONTAL YANG DIINDUKSI BAKTERI**

***Porphyromonas gingivalis***

**Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats***

Yang dipersiapkan dan dipertahankan oleh

**CORRINA HEPARTI NOVSYAMI**

**NIM : 1110342032**

Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji Hasil Penelitian Skripsi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas pada tanggal 24 April 2015 dan  
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Padang, April 2015

Menyetujui,

Penguji I

**drg. Mustafan Noer, MS**

NIP. 195809061985031001

Penguji II

**Dra. Yustini Alioes, M.Si, Apt**

NIP. 196006141988112001

Penguji III

**drg. Gunawan**

NIP. 198203092014041001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Andalas

**Dr. dr. Afriwardi, Sp.KO, MA**

NIP. 196704211997021001



## SKRIPSI

Judul Skripsi : **PENGARUH BAKTERI *Pediococcus pentosaceus* ISOLAT DADIH TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  PADA INFLAMASI JARINGAN PERIODONTAL YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* (Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats*)**

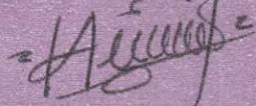
Peminatan : *Oral Biology*

### Data Mahasiswa

Nama : Corrina Heparti Novsyiami  
NIM : 1110342032  
Tempat/Tanggal Lahir : Cupak/ 05 September 1993  
Tahun Masuk : 2011  
Dosen PA : drg. Aida Fitriana, M.Biomed  
Jenis Penelitian : Eksperimental laboratorium

Padang, April 2015

Mengetahui,  
Koordinator Skripsi



**Dr.drg.Nila Kasuma, M.Biomed**  
NIP. 197207202000122002

Mahasiswa/Peneliti



**Corrina Heparti Novsyiami**  
NIM. 1110342032



## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Corrina Heparti Novsyiami

No. BP : 1110342032

Fakultas : Kedokteran Gigi

Angkatan : 2011

Jenjang : Sarjana

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul **"Pengaruh Bakteri *Pediococcus pentosaceus* Isolat Dadih Terhadap Kadar TNF- $\alpha$  Pada Inflamasi Jaringan Periodontal yang diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats*)"**.

Apabila terbukti bahwa saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat keterangan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Padang, April 2015



Corrina Heparti Novsyiami  
BP. 1110342032



## **RIWAYAT HIDUP**

### **I. Identitas**

Nama : Corrina Heparti Novsyiami  
BP : 1110342032  
Tempat/ Tanggal Lahir : Cupak / 05 September 1993  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Alamat : Jl. Jati VI No. 37, Padang Timur, Padang

### **II. Riwayat Pendidikan**

1. TK Kuncup Mekar Alahan Panjang (1998-1999)
2. SD Negeri 01 Alahan Panjang (1999-2005)
3. SMP Negeri 01 Lembah Gumanti (2005-2008)
4. SMA Negeri 01 Lembah Gumanti (2008-2011)
5. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas (2011-sekarang)



CORRINA HEPARTI NOVSYIAMI, 1110342032

**Pengaruh Bakteri *Pediococcus pentosaceus* Isolat Dadih Terhadap Jumlah TNF- $\alpha$  Pada Inflamasi Jaringan Periodontal Yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis***  
**Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats***  
xi + 63 Halaman + 4 Gambar + 2 Tabel + 4 Lampiran

#### ABSTRAK

**Pendahuluan :** Etiologi primer penyakit periodontal salah satunya adalah iritasi bakteri patogen spesifik *Porphyromonas gingivalis* yang akan mengeluarkan toksin Lipopolisakarida. Toksin ini akan memicu produksi *Tumor necrotizing factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), yang ketika tinggi dapat mengakibatkan resorpsi tulang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

**Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan pos tes dengan kontrol grup. Penelitian dilakukan pada 27 ekor *Sprague Dawley Rat*. Terdiri dari 3 kelompok perlakuan (1) Kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan, (2) Kontrol positif yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan (3) Perlakuan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan diberikan bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari. Pemeriksaan TNF- $\alpha$  dilakukan dengan metode *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA).

**Hasil Penelitian :** Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol negatif adalah 0,22 ng/ml  $\pm$  0,106. Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol positif adalah 0,32 ng/ml  $\pm$  0,294. Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan adalah 0,06 ng/ml  $\pm$  0,048. Uji statistik ANOVA mempunyai hasil  $p = 0,01$  dimana  $p < 0,05$  mempunyai arti bahwa semua kelompok perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna. Uji post hoc LSD menggambarkan bahwa : Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dan kontrol positif dan terdapat perbedaan antara perlakuan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

**Kesimpulan :** Dadih dapat menurunkan jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal. Penelitian lanjutan sangat dibutuhkan untuk menyempurnakan penelitian saat ini.

Kata kunci : Inflamasi periodontal, *Porphyromonas gingivalis*, *Pediococcus pentosaceus*, TNF- $\alpha$



CORRINA HEPARTI NOVSYIAMI, 1110342032

Pengaruh Bakteri *Pediococcus pentosaceus* Isolat Dadih Terhadap Jumlah TNF- $\alpha$  Pada Inflamasi Jaringan Periodontal Yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*  
Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats*  
xi + 63 Halaman + 4 Gambar + 2 Tabel + 4 Lampiran

#### ABSTRAK

**Pendahuluan :** Etiologi primer penyakit periodontal salah satunya adalah iritasi bakteri patogen spesifik *Porphyromonas gingivalis* yang akan mengeluarkan toksin Lipopolisakarida. Toksin ini akan memicu produksi *Tumor necrotizing factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), yang ketika tinggi dapat mengakibatkan resorpsi tulang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

**Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan post tes dengan kontrol grup. Penelitian dilakukan pada 27 ekor *Sprague Dawley Rat*. Terdiri dari 3 kelompok perlakuan (1) Kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan, (2) Kontrol positif yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan (3) Perlakuan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan diberikan bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari. Pemeriksaan TNF- $\alpha$  dilakukan dengan metode *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA).

**Hasil Penelitian :** Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol negatif adalah 0,22 ng/ml  $\pm$  0,106. Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol positif adalah 0,32 ng/ml  $\pm$  0,294. Kadar rata-rata TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan adalah 0,06 ng/ml  $\pm$  0,048. Uji statistik ANOVA mempunyai hasil  $p = 0,01$  dimana  $p < 0,05$  mempunyai arti bahwa semua kelompok perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna. Uji post hoc LSD menggambarkan bahwa : Tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dan kontrol positif dan terdapat perbedaan antara perlakuan dengan kontrol negatif dan kontrol positif.

**Kesimpulan :** Dadih dapat menurunkan jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal. Penelitian lanjutan sangat dibutuhkan untuk menyempurnakan penelitian saat ini.

Kata kunci : Inflamasi periodontal, *Porphyromonas gingivalis*, *Pediococcus pentosaceus*, TNF- $\alpha$



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia dari Allah penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Bakteri *Pediococcus pentosaceus* Isolat Dadih Terhadap Kadar TNF- $\alpha$  Pada Inflamasi Jaringan Periodontal yang diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada *Sprague – Dawley Rats*”. Shalawat dan salam teruntuk Nabi Muhammad salallahu'alaihiwassalam yang berjasa penuh didalam perkembangan iman dan akhlak manusia. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas. Penelitian ini dapat terselesaikan berkat bantuan dan pengarahan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Nofiardi dan Ibu Siti Aisyah selaku orang tua penulis yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini
2. Bapak Dr.dr. Afriwardi, Sp.KO, MA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas
3. Ibu Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed dan Ibu drg. Aida Fitriana, M.Biomed selaku pembimbing I dan II yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada peneliti untuk menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak drg. Mustafa Noer, MS, Ibu Dra. Yustini Alioes, M.Si, Apt dan Bapak drg. Gunawan selaku penguji I, penguji II dan penguji III yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis
5. Seluruh staf kependidikan dan perpustakaan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas atas bantuannya selama proses pembuatan skripsi ini.



5. Prof.drg. Boy M Bachtiar, MS, PhD selaku kepala Lab Oral Biology FKG UI atas fasilitasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*
6. Prof. Drh. Endang Purwanti selaku kepala Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Unand atas fasilitasi bakteri *Pediococcus pentosaceus* dan pemakaian laboratorium
7. Saudara Hendri, M,Si selaku teknisi Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Unand atas bantuan pemakaian Laboratorium Teknologi Hasil Ternak
8. Dinas Peternakan Sumatera Barat atas fasilitas dokter hewan untuk membantu pengambilan sampel penelitian
9. Drh. Hanif Fadly dan drh. Fira dari Dinas Peternakan Sumatera Barat atas bantuan pengambilan sampel penelitian
10. Saudari Juane Plantika Menra, M.Si selaku teknisi Laboratorium Biomedik atas bantuan pemeriksaan TNF- $\alpha$  yang dilakukan penulis
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian skripsi ini yang namanya tidak bisa peneliti sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam skripsi ini, maka dengan segala kerendahan hati, penulis menerima masukan berupa saran dan kritik yang berguna bagi penulis sebagai bahan pertimbangan untuk perbaikan. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya.

Padang, April 2015

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	Hal i
<b>ABSTRAK.....</b>	ii
<b>ABSTRACT.....</b>	iii
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	iv
<b>DAFTAR ISI.....</b>	vi
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	viii
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	ix
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	x
<b>DAFTAR ISTILAH.....</b>	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Periodontitis.....	7
2.1.1 Defenisi.....	7
2.1.2 Etiologi.....	7
2.1.3 Patofisiologi.....	11
2.1.4 Induksi penyakit periodontal pada hewan coba.....	13
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	14
2.3 Pengaruh <i>Tumor Necrotizing Factor <math>\alpha</math></i> (TNF- $\alpha$ ) pada Periodontitis.....	17
2.4 Probiotik.....	20
2.5 Dadih.....	23
2.6 Kerangka Teori.....	27
2.7 Penjelasan Kerangka Teori.....	28
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFENISI OPERASIONAL</b>	
3.1 Kerangka Konsep.....	29
3.2 Variabel.....	29
3.3 Defenisi Operasional.....	30
3.4 Hipotesis.....	31
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	32
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	32
4.3 Populasi dan Sampel.....	33



4.4 Alat dan Bahan.....	35
4.5 Prosedur Kerja.....	37
4.6 Pengolahan dan Analisa Data.....	45
4.7 Alur Penelitian.....	47
<b>BAB V HASIL DAN ANALISIS DATA.....</b>	<b>48</b>
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b>	
6.1 Pembahasan Penelitian.....	52
6.2 Keterbatasan Penelitian.....	57
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1 Simpulan.....	58
7.2 Saran .....	58
<b>KEPUSTAKAAN.....</b>	<b>59</b>



## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 2.1 Koloni <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada plat agar eTS.....	15
Gambar 2.2 Mekanisme RANK <i>Independent</i> dan <i>dependent</i> pada TNF- $\alpha$ mediator osteoklastogenesis.....	19
Gambar 2.3 Mekanisme probiotik dalam penyembuhan penyakit di rongga mulut...	22
Gambar 2.4 Dadih murni dalam tabung bambu.....	24



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Master Tabel Tabel.....
Lampiran 2 <i>Ethical clearance</i> .....
Lampiran 3 Surat bebas laboratorium.....
Lampiran 3 Foto penelitian.....
Lampiran 4 SPSS.....



## DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 5.1 Kadar TNF- $\alpha$ pada semua kelompok uji.....	49
Tabel 5.2 Uji LSD.....	50



## Daftar istilah

TNF – $\alpha$	Tumor Necrosis Factor - $\alpha$
IL – 1	Interleukin -1
IL – 6	Interleukin - 6
IFN – $\gamma$	Interferon gamma
LPS	Lipopolisakarida
GCF	Gingival crevicular fluid
PMNs	Polymorphonuclear cells
ICAM – 1	Intercellular adhesion molecular -1
ELAM – 1	Endothelial adhesion molecular – 1
DPPIV	Dipeptidyl peptidase IV
APC	Antigen presenting cell
PMN	Polimorfonuklear
MHC	Major histocompatibility complex
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay
CFU – GM	Colony forming units – granulocyte macrophage
M-CSF	Macrophage – colony stimulating factor
RANKL	Receptor activator on Nf-kB 's ligand
OPG	Osteoprotegerin
BAL	Bakteri asam laktat
MPPs	Matrix metalloproteinase
PGE2	Prostaglandin E2
NFkB	Nuclear Factor kB

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit dengan tingkat keluhan yang tinggi. Jumlah populasi dewasa dunia yang menderita penyakit periodontal adalah 50% (Wahyukundari, 2009). Indonesia berdasarkan profil data kesehatan Indonesia tahun 2011, yang dikeluarkan oleh Kementrian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2012, sebanyak 72.223 penduduk Indonesia menjalani pengobatan periodontal di Rumah Sakit Umum Provinsi dan Rumah Sakit Daerah. Angka kesakitan tertinggi berada di Provinsi Jawa Timur dengan 35.326 pasien disusul Jawa Tengah sebanyak 5.205 pasien, sedangkan Sumatera Barat sendiri berada di peringkat 6 dengan jumlah pasien sebanyak 2.317 jiwa.

Etiologi primer penyakit periodontal adalah iritasi bakteri patogen spesifik (Charles, 2008). Etiologi sekunder adalah kondisi rongga mulut yang buruk, merokok, tingkat pendidikan, status sosial ekonomi, usia, masa kehamilan, faktor genetik dan penyakit sistemik (Widyastuti, 2009).

Bakteri patogen spesifik yang mempunyai kemampuan menembus dan merusak jaringan periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis* dan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Fauziah dan Herawati, 2008). *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang memiliki pertumbuhan paling pesat pada saat terjadinya periodontitis. Pada kondisi normal jumlah bakteri tersebut hanya 10.6 sedangkan pada periodontitis jumlahnya meningkat menjadi 59.5 (Carranza, 2006).



*Porphyromonas gingivalis* akan mengeluarkan toksin Lipopolisakarida (LPS), yang selanjutnya toksin ini dapat menginduksi kejadian seluler di jaringan periodontal khususnya pada tulang alveolar (Amin, 2010). Kejadian seluler yang terjadi merupakan mekanisme perlindungan awal dari sistem imun alami. Sel-sel fagosit seperti polimorfonuklear, neutrofil, monosit dan makrofag memicu pelepasan mediator-mediator kimia seperti sitokin. Sel sitokin yang berperan dalam penyakit periodontal adalah : Interleukin -1 (IL - 1), Interleukin - 6 (IL-6), *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF-  $\alpha$ ) dan Interferon - gamma (IFN- $\gamma$ ) (Eley dkk; 2010).

Pada penyakit periodontal, dengan karakteristik hilangnya tulang disekitar jaringan pendukung gigi disebabkan oleh perluasan inflamasi marginal gingiva ke jaringan penyokong. Invasi dari inflamasi gingiva ke permukaan tulang dan permulaan dari kehilangan tulang merupakan ciri utama transisi dari gingivitis ke periodontitis (Carranza, 2006). Inflamasi yang terjadi dapat meningkatnya proses osteoklastik yang mengakibatkan resorpsi tulang. Resorpsi ini banyak diperantarai oleh meningkatnya produksi lokal sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$  (Boyce dkk, 2005). Aktivitas TNF- $\alpha$  dapat meningkatkan fungsi *osteoclastogenesis* dan menurunkan fungsi *osteoblastogenesis* (Mayer dkk, 2009). TNF- $\alpha$  dapat menstimulasi resorpsi tulang dengan : (1) menginduksi proliferasi dan diferensiasi progenitor-progenitor osteoklas dan mengaktifkan formasi osteoklas secara tidak langsung, (2) menstimulasi kolagenase dan degradasi kolagen tipe I oleh fibroblas sehingga memicu destruksi jaringan periodonsium (Erica dkk, 2000).

TNF- $\alpha$  merupakan sitokin utama pada respons inflamasi akut terhadap bakteri gram negatif serta toksinnya seperti lipopolisakarida. Infeksi yang berat serta lama dapat memicu produksi TNF- $\alpha$  dalam kadar tinggi yang menimbulkan

reaksi sistemik. Pada kadar rendah, TNF- $\alpha$  bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut. Pada kadar sedang, TNF- $\alpha$  berperan pada inflamasi sistemik. Pada kadar tinggi, TNF- $\alpha$  menimbulkan kelainan patologi syok septik (Baratawidjaja, 2006)

Kadar TNF-  $\alpha$  dalam serum dan jaringan yang terinflamasi berkorelasi positif dengan tingkat kerusakan jaringan dan aktivitas pajanan penyakit. TNF-  $\alpha$  juga dapat menginduksi mediator inflamasi lain seperti prostaglandin, merangsang pembentukan enzim litik (seperti kolagenase) dan meningkatkan aktivitas pembunuhan dan fagosit bakteri (Mayer dkk, 2009). Dengan melihat efek dari aktivitas TNF- $\alpha$  pada kadar tinggi maka diperlukan suatu pengobatan yang dapat menghambat atau menurunkan aktivitas TNF- $\alpha$  pada kondisi inflamasi.

Dewasa ini tatalaksana periodontitis terus dikembangkan salah satunya dengan menggunakan probiotik. Penelitian yang dilakukan oleh Shah, dkk (2013) mengenai perbandingan efek probiotik murni, probiotik dicampur dengan antibiotik dan antibiotik murni menunjukkan hasil bahwa probiotik berpotensi sebagai obat periodontitis masa depan karena fungsi probiotik yang sama dengan antibiotik namun probiotik tidak menimbulkan resistennya bakteri serta tidak merusak keseimbangan mikro flora tubuh.

Salah satu probiotik tradisional yang banyak dikonsumsi masyarakat adalah dadih. Dadih merupakan salah satu jenis susu fermentasi tradisional Indonesia dan cukup terkenal di Sumatera Barat, Jambi dan Riau (Usmiati, 2012). Purwanti (2010) dalam penelitiannya menemukan bahwa di dalam dadih susu kerbau yang mengandung bakteri asam laktat, didominasi oleh bakteri *Lactococcus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecalis* dan *Weisella*. Salah satu produk dari bakteri



asam laktat ini adalah nisin. Nisin adalah antibiotik alami yang memiliki kandungan bakteriosin dan memiliki spektrum aktifitas paling luas (Yuliawati dkk, 2012). Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama yang bersifat patogen (Kusmiati dan Malik, 2002). Dengan adanya nisin ini membuat bakteri isolat dadih dapat mencegah inflamasi lanjutan yang disebabkan oleh bakteri patogen pada penyakit periodontal. *Pediococcus pentosaceus* merupakan bakteri khas dari isolat dadih Sumatera Barat yang saat ini dikenal memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan juga gram negatif.

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik ingin menguji pengaruh bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap kadar TNF- $\alpha$  tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Penelitian eksperimental laboratoris pada tikus jenis wistar) yang dapat menjadi rujukan informasi pengembangan pengobatan berbasis pakan tradisional seperti dadih.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, timbul permasalahan yaitu:

Apakah terdapat pengaruh pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini ialah : Untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

- 1.4.1 Memberikan informasi mengenai pengaruh bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap kadar TNF- $\alpha$  tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
- 1.4.2 Memberikan informasi mengenai potensi Bakteri Asam Laktat Isolat dadih yang mana dadih merupakan pakan tradisional Sumatera Barat terhadap kesehatan rongga mulut khususnya pada penyakit periodontal.
- 1.4.3 Menjadi acuan dan informasi tambahan untuk penelitian selanjutnya agar hasil yang telah didapatkan pada penelitian ini dapat disempurnakan

### 1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini dibatasi pada :

- 1.5.1 Hewan coba ialah tikus wistar jantan yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok. (1) Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan; (2) Kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif yang diberi induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari (3) Kelompok 3 merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi bakteri



*Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan diberikan Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari

- 1.5.2 Mediator Infeksi yang digunakan ialah injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
- 1.5.3 Bahan coba yang digunakan ialah : Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih.
- 1.5.4 Hasil yang dilihat ialah kadar TNF- $\alpha$  pada semua kelompok.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Periodontitis**

##### **2.1.1 Defenisi**

Penyakit periodontal merupakan inflamasi kronis dengan hasil turunnya jaringan pendukung gigi termasuk resorbsinya tulang alveolar pada rahang (Baker dkk, 2000). Pendapat lain menyatakan bahwa penyakit periodontal destruktif adalah kondisi inflamatori kronik dengan ciri khas destruksinya jaringan ikat dan tulang alveolar, yang selanjutnya menyebabkan kehilangan gigi (Kusumawardani dkk, 2010).

##### **2.1.2 Etiologi**

Etiologi pada penyakit periodontal adalah : semua faktor atau agen yang dengan suatu cara menyebabkan, memodifikasi atau berperan serta dalam terjadinya penyakit periodontal. Etiologi penyakit periodontal dewasa ini dibagi atas:

##### **a. Faktor primer**

Penyebab utama pada penyakit periodontal adalah iritasi bakteri. Sejumlah kecil plak biasanya tidak mengganggu kesehatan gingiva dan periodontal dan beberapa pasien bahkan mempunyai plak dalam jumlah yang cukup besar dalam waktu lama tanpa mengalami periodontitis yang merusak walaupun mereka mengalami gingivitis (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).



Hubungan antara penyakit periodontal dengan iritasi bakteri dikenal dengan teori plak. Ada terdapat dua teori mengenai hubungan antara mikroorganisme plak dan penyakit periodontal yaitu :

1. Teori bakteri non spesifik

Pada teori non spesifik yang menyebabkan penyakit periodontal adalah hasil akumulasi toxin-toxin dari bakteri yang dihasilkan oleh plak yang terbentuk (Carranza, 2006). Inflamasi penyakit periodontal terbentuk bila proliferasi bakteri melebihi ambang batas resistensi hospes dan disebabkan karena efek semua bakteri plak. Semua bakteri plak dianggap mempunyai faktor virulensi yang menyebabkan inflamasi gingiva dan kerusakan periodontal. Keadaan ini menunjukkan bahwa plak akan menimbulkan penyakit tanpa tergantung pada komposisinya (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

2. Teori bakteri spesifik

Menurut teori bakteri spesifik adalah adanya bakteri patogen spesifik yang menjadi penyebab penyakit periodontal. Teori ini meyakini bahwa penyakit periodontal diperantarai oleh bakteri yang spesifik disebabkan pada saat pengujian secara mikroskopis pada plak ditemukan dua kelompok bakteri yang berbeda pada kondisi sehat dengan adanya kelainan periodontal (Carranza, 2006). Bakteri spesifik yang menjadi penyebab penyakit periodontal adalah golongan bakteri gram negatif anaerob diantaranya adalah : *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan *Prevotella intermedia*. Bakteri patogen spesifik ini akan menyebabkan penyakit periodontal dengan cara

memproduksi substansi yang memperantarai perusakan jaringan periodontal (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

## **b. Faktor sekunder**

### **1. Faktor lokal**

Faktor lokal merupakan hal didalam rongga mulut yang memudahkan terjadinya penumpukan plak

#### **a. Restorasi yang keliru dan Gigi tiruan dengan desain yang buruk, .**

Pada kasus restorasi yang keliru dan gigi tiruan yang mempunyai desain yang buruk merupakan faktor pemicu penumpukan plak. Pada restorasi yang keliru atau tidak tepat merupakan faktor yang paling berpengaruh bagi retensi plak, sedangkan pada geligi tiruan dengan desain buruk dapat menimbulkan iritasi jaringan melalui berbagai cara. Gigi tiruan yang longgar atau tidak terpoles dengan baik cenderung sebagai tempat timbunan plak (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

#### **b. Susunan gigi yang tidak beraturan.**

Susunan gigi yang tidak beraturan tidak hanya menjadi masalah estetika semata tapi juga berhubungan dengan penyakit periodontal. Susunan gigi yang tidak beraturan merupakan faktor predisposisi dari retensi plak dan mempersulit upaya penghilangan plak (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

#### **c. Merokok tembakau.**

Peningkatan prevalensi penyakit periodontal yang dipicu oleh rokok berkaitan dengan interaksi bakteri yang pada umumnya ditemukan pada periodontitis yang sudah kronis. Ketidakseimbangan antara bakteri dan



respon host bisa menjadi penyebab perubahan komposisi plak subgingiva, dengan meningkatnya jumlah dan virulensi bakteri patogen (Carranza, 2006)

Konsumsi rokok tembakau dapat menyebabkan permukaan gigi menjadi kasar ditambah perokok memiliki habit untuk membersihkan rongga mulut yang buruk. Efek yang paling jelas terlihat dari kebiasaan merokok adalah perubahan warna gigi geligi dan bertambahnya keratinisasi epitelium mulut. Keratinisasi ini mampu menyamarkan inflamasi yang terjadi dan dapat mengurangi perdarahan gingiva. Pada perokok tembakau prevalensi penyakit periodontal banyak disebabkan karena kebersihan mulut yang buruk dan diagnosis yang terlambat (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

## **2. Faktor sistemik**

### **a. Faktor genetik**

Kerentanan individu terhadap periodontitis kronis umumnya bervariasi dan variasi pada respon hospes ini diperantarai oleh berbagai faktor genetik dan tidak berhubungan dengan standar kebersihan mulut (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

### **b. Faktor nutrisi**

Pada defisiensi nutrisi yang parah, yang umumnya disertai dengan kebersihan mulut yang sangat buruk, terlihat adanya kerusakan jaringan periodontal yang berkembang dengan cepat dan tanggalnya gigi yang cukup dini (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

c. Faktor hormonal

Perubahan hormon seksual berlangsung semasa pubertas dan kehamilan, keadaan ini dapat menimbulkan perubahan jaringan gingiva yang merubah respon terhadap produk-produk plak (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

d. Diabetes

Diabetes yang tidak terkontrol dapat merubah respon jaringan periodontal terhadap plak, khususnya pada kasus yang parah dan sudah berlangsung lama. Pada diabetes sejumlah perubahan jaringan yang terjadi menyebabkan kerentanan ini. Perubahan vaskular sering ditemukan dan terlihat peningkatan aktivitas kolagen serta perubahan respon perantara sel terhadap antigen plak. Kemotaksis dari PMN dan fagositosis terhambat. Oleh karena itu kerentanan yang terjadi pada pasien diabetes ini harus diantisipasi oleh pasien dengan *scaling* dan teratur dan perawatan kebersihan mulut yang rutin (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012).

e. Faktor hematologi

Kelainan darah tidak menyebabkan gingivitis tetapi dapat menimbulkan perubahan jaringan yang merubah respons jaringan terhadap plak. Contoh penyakit yang dapat menyebabkan kelainan tersebut adalah : Anemia, Leukemia dan Leukopenia (Manson, J.D dan Eley, B.M, 2012)

### 2.1.3 Patofisiologis

Page and Schroeder membagi 4 fase pada perjalanan lesi gingiva / periodontal yakni : *initial*, *early*, *established*, dan *advance* yang didasarkan pada tanda klinis dan histologi yang ditemukan :



**a. *The initial Lesion***

Inflamasi berkembang cepat setelah adanya akumulasi plak pada gingiva sepertiga gigi. Tahap *initial lesion* muncul setelah 2 – 4 hari akumulasi plak pada gingiva yang sebelumnya sehat dan terlokalisasi pada sulkus gingiva, termasuk epitel jungsional dan bagian paling koronal pada jaringan ikat. Pada tahap ini ditandai dengan adanya pelebaran pembuluh darah, tekanan hidrostatik dalam mikrosirkulasi menjadi tinggi dan meningkatnya kesenjangan antara sel endotel pada kapiler yang menyebabkan peningkatan permeabilitas *microvascular bed*. Akibatnya protein dan cairan keluar ke arah jaringan. Secara klinis, terjadinya peningkatan laju *Gingival Crevicular Fluid (GCF)* yang berperan pada pembilasan zat berbahaya yang dihasilkan oleh biofilm plak. Pada tahap ini *Polymorphonuclear cells (PMNs)* mulai bermigrasi ke *Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1)* dan *Endothelial Adhesion Molecule-1 (ELAM-1)* (Kayal, 2013).

**b. *The Early Lesion***

Setelah sekitar 7 hari pasca akumulasi plak, terjadi peningkatan jumlah pembuluh pada pleksus dentogingival. Peningkatan ukuran dan jumlah ini menyebabkan margin gingiva menjadi kemerahan. Sel yang mendominasi tahap gingivitis ini adalah PMNs dan Limfosit pada daerah perifer dengan hanya terdapat sedikit sel-sel plasma. Tanda-tanda degenerasi mulai ditunjukkan oleh fibroblas melalui proses apoptosis, serta serat kolagen mulai rusak untuk memberikan jalan infiltrasi leukosit, destruksi kolagen pada daerah infiltrasi mencapai 60–70%. Lapisan sel

basal dari epitel mulai berproliferasi untuk meningkatkan barier fisik antara biofilm dan jaringan ikat. Tahap ini dapat bertahan lama sebelum masuk ke tahap sebelumnya, hal ini berhubungan erat dengan virulensi bakteri dan kerentanan host (Kayal, 2013).

**c. *The Established Lesion***

Paparan bakteri plak yang terus berlanjut mengakibatkan respon inflamasi pada jaringan gingiva terus ditingkatkan. Terjadi peningkatan infiltrasi leukosit kedalam epitel jungsional dan jaringan ikat. Degradasi kolagen juga terus berlanjut dan sel-sel inflamasi berinfiltrasi lebih dalam pada jaringan. Poket gingiva banyak diinfiltrasi oleh leukosit terutama PMNs dan lebih permeabel yang memungkinkan keluar – masuknya zat dari jaringan ikat (Kayal, 2013).

**d. *The Advanced Lesion***

Pada tahap ini terjadi infiltrat sel inflamasi yang lebih dalam pada jaringan ikat. Hal ini menyebabkan meluasnya peradangan, bertambahnya kedalaman poket, berkembangnya biofilm dalam kondisi anaerob dan osteosit-osteosit mulai mendestruksi tulang. Pada tahap inilah terbentuknya poket periodontal, ulserasi dan supurasi, destruksi tulang alveolar dan ligamen periodontal (Denis FK, 2000)

**2.1.4 Induksi penyakit periodontal pada hewan coba**

Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, maka berkembang pula penelitian-penelitian terhadap penyakit periodontal. Penelitian yang banyak dilakukan adalah melibatkan hewan coba seperti tikus atau mencit. Alasan



pemilihan tikus / mencit karena bagian molar, alveolar ridge dan jaringan periodontal yang sama dengan manusia. Alasan lainnya adalah mudah pengaturan kondisi hewan coba dan harga yang lebih murah. Kelemahan penggunaan tikus / mencit adalah ukuran rongga mulut dan jaringan didalamnya yang kecil (Oz dan Puleo, 2011).

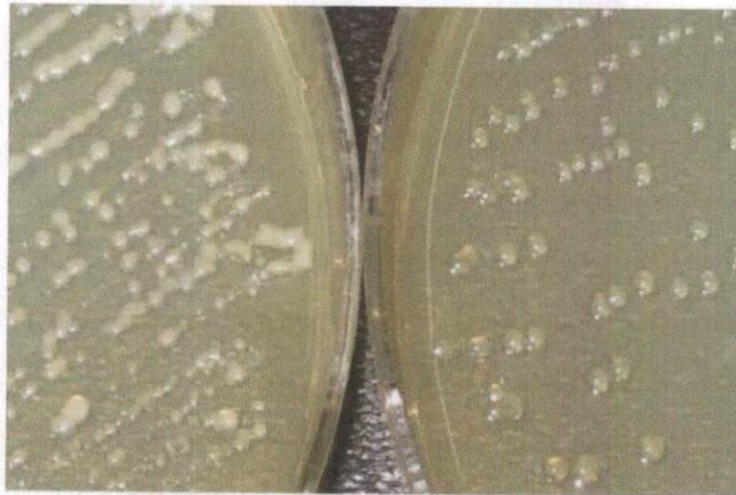
Ada 3 teknik yang dapat dilakukan untuk mendapatkan kondisi periodontitis pada hewan coba : (1) Menginjeksikan *periodontopathogens*, seperti bakteri penyebab periodontitis, karakteristiknya memiliki pola infeksi tunggal, (2) Menempatkan kawat disekeliling servikal gigi yang membuat mikroorganisme pada subgingival bisa terakumulasi, dan (3) mengatur makan hewan coba dengan diet makanan lunak yang diharapkan secara natural dapat meningkatkan jumlah plak supragingival pada bagian dentogingival (Galvao dkk, 2003).

## 2.2 *Porphyromonas gingivalis*

Pada kasus periodontitis pada semua tingkatan umur dan jenis kelamin 82% nya disebabkan oleh *Porphyromonas gingivalis* (Yendriwati, 2008). *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri Gram-negatif anaerob berbentuk batang, memiliki faktor virulensi potensial meliputi enzim proteolitik, leukotoksin, endotoksin (lipopolisakarida/LPS), penghindaran dari respon inang, invasi ke jaringan inang, dan induksi mediator inflamasi (Gursoy dkk, 2008).

W83

ATCC 33277



Gambar 2.1 Koloni *Porphyromonas gingivalis* pada plat agar eTS (Naito dkk, 2011).

#### Klasifikasi

Phylum	: Bacteroidetes
Class	: Bacteroidetes
Orde	: Bacteroidales
Family	: Porphyromonadaceae
Genus	: Porphyromonas
Species	: Porphyromonas gingivalis

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*. Kemampuan *Porphyromonas gingivalis* menyebabkan periodontitis ditentukan oleh faktor virulensi dari bakteri ini sendiri. Pembentukan biofilm dan aktivitas *Dipeptidyl Peptidase IV* (DPPIV) berpengaruh kepada potensi patogen dari



*Porphyromonas gingivalis* dan dapat meningkatkan virulensi *Porphyromonas gingivalis* melalui peningkatan aktivitas DPPIV (Mysak dkk, 2013).

Aktivitas dan respon yang ditimbulkan dari *Porphyromonas gingivalis* berpengaruh pada perkembangan penyakit periodontal yang diderita seseorang. Pada periodontitis kronis kondisi ini berkaitan dengan kemampuan *Porphyromonas gingivalis* untuk menghindari respon imunitas yang dihasilkan oleh host. Respon inflamasi justru menguntungkan bakteri periodontal melalui eksudat inflamasi (cairan sulkus gingiva) yang menjadi nutrisi penting bagi bakteri seperti peptida dan derivat dari hemin (Mysak dkk, 2013).

Pada periodontitis agresif bakteri *Porphyromonas gingivalis* berkontribusi melalui induksi sitokin inflamasi dalam jumlah yang tinggi. Sitokin tersebut diantaranya adalah TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL6 melalui sel T helper. Induksi sitokin yang berlebihan menyebabkan kerusakan jaringan periodontal. *Porphyromonas gingivalis* dengan serotipe K1 dan K2 berhubungan dengan peningkatan produksi osteoklastogenesis. Pada studi *in vivo* serotipe ini berperan penting pada patogenesis periodontitis. Lipopolisakarida dari *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menghambat aktivitas fosfat alkalin, kolagen tipe I dan produksi osteoklastin yang berpengaruh kepada aktivitas kerusakan tulang pada kasus periodontitis (Mysak dkk, 2013).

Produksi sitokin pada *Porphyromonas gingivalis* dipicu melalui netrofil, monosit dan makrofag. *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menghilangkan kepekaan sel imun secara *in vitro* dan *in vivo*. Suatu studi menunjukkan bahwa lipopolisakarida *Porphyromonas gingivalis* dapat meningkatkan daya tahan dari APC (*Antigen Presenting Cell*) dan meningkatkan stimulus ILT-3 dan B7-H1.

mekanisme ini dapat menjadi faktor penting dalam patogenesis penyakit periodontal (Manson dan Eley, 2012).

Efek lain dari bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada sistem imun host adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis* mampu menghalangi migrasi dari PMN (Polimorfonuklear) sepanjang epithelium, proses ini dapat melibatkan degradasi dari proteinase dan molekul perlekatan intraseluler (ICAM-1) di sel-sel epitel. Proteinase dari *Porphyromonas gingivalis* dapat menghambat dan juga menstimulasi perpindahan PMN ke celah gingiva. RgpA dapat melemahkan proses pemusnahan bakteri oleh PMN. *Cysteine proteinase* dari *Porphyromonas gingivalis* dapat menurunkan kadar lisozim yang ditemukan pada cairan crevicular gingiva dan saliva (Manson dan Eley, 2012)

*Cysteine proteinase* dari *Porphyromonas gingivalis* adalah produk ekstraseluler dari bakteri utama penyebab periodontal. Penelitian *in vitro* pada enzim ini, memperlihatkan hasil bahwa enzim ini terlibat pada proses penghancuran jaringan periodontal dan mengganggu mekanisme pertahanan host melalui degradasi imunoglobulin dan pada akhirnya berpengaruh pada perkembangan penyakit (Mysak dkk, 2013)

#### **2.4 Pengaruh *Tumor Necrotizing Factor $\alpha$* (TNF – $\alpha$ ) pada periodontitis**

Pada penyakit periodontal respon imun yang terjadi berasal dari respon imun alami (non spesifik) dan respon imun adaptif (spesifik). Pada saat terjadinya inflamasi atau infeksi pertama kali maka sistem imun alami akan bekerja segera untuk melawan infeksi atau inflamasi tersebut. Sistem imun alami bekerja melalui perekrutan sel-sel imun, pengaktifan sistem komplemen, identifikasi dan



penyingkiran zat-zat asing serta pengaktifan sistem imun adaptif. Sel-sel imun alami seperti polimorfonuklear neutrofil, monosit dan makrofag memicu pelepasan mediator-mediator kimia seperti sitokin (Thomas dan Kennet, 2008).

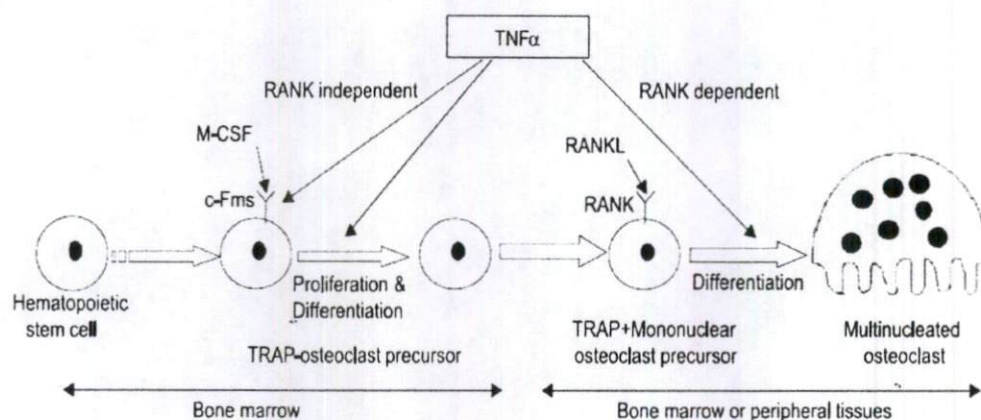
Sitokin disekresikan oleh sel T *helper* yang dapat menstimulus sel B untuk menghasilkan antibodi. Sel T *helper* diaktivasi setelah *Antigen Presenting Cell* (APC) menerima antigen melalui molekul MHC kelas II. Jika sitokin diproduksi dalam kadar yang berlebihan maka akan terjadi destruksi atau penyakit progresif (Erica dkk, 2000). Pada penyakit periodontal sitokin yang banyak dihasilkan salah satunya adalah TNF-  $\alpha$ .

Pada penyakit periodontal yang berhubungan dengan destruksinya tulang alveolar dipengaruhi oleh aktivitas osteoklas yang tinggi. Osteoklas merupakan sel-sel multinukleat yang dibentuk dengan proses peleburan progenitor-progenitor mononukleat di dalam monosit atau makrofag yang diperoleh dari *colony-forming units* dan *units granulocyte-macrophage* (CFU-GM). Suatu penelitian mengidentifikasi ada dua cara pengaktifan osteoklas pada proses osteoklastogenesis. Pertama diaktifkannya *macrophage-colony stimulating factor* (M-CSF) yang mana sinyal ini dibawa melalui reseptornya c-Fms dan yang kedua diaktifkan oleh *Ligand of Receptor Activator on NF-kB* (RANKL) melalui reseptornya yang disebut RANK (Boyce dkk, 2005).

Pada penyakit periodontal, TNF- $\alpha$  dapat merangsang produksi osteoklas melalui dua mekanisme diatas : (1) TNF-  $\alpha$  mampu merangsang produksi RANKL oleh sel-sel stroma dan juga menginduksi sekresi RANKL oleh Limfosit T, Limfosit B dan sel-sel endotel untuk menginduksi formasi osteoklas secara tidak langsung. (2) TNF -  $\alpha$  dapat menstimulasi produksi M-CSF oleh sel-sel stroma.

*Osteoclast differentiation factor* (ODF, disebut juga RANKL/TRANCE/OPGL) menstimulasi progenitor-progenitor osteoklas pada monosit/makrofag menjadi osteoklas dengan adanya M-CSF (Kobayashi, 2000).

Paparan kronik dari  $\text{TNF-}\alpha$  meningkatkan osteoklastogenesis melalui mekanisme *dependent* dan *independent*.  $\text{TNF-}\alpha$  pertama kali mempengaruhi osteoklastogenesis pada prekursor-prekursor osteoklas didalam sumsum tulang oleh sel-sel dasar untuk berdifferentiasi menjadi  $\text{c-Fms}^+/\text{CD11b}^+/\text{RANK}^{+/-}$  progenitor-progenitor osteoklas melalui mekanisme *independent*  $\text{RANKL}/\text{RANK}$ . Prekursor-prekursor osteoklas ini kemudian masuk kedalam pembuluh darah dan jaringan perifer kemudian berdifferentiasi menjadi osteoklas yang matang melalui mekanisme *dependent* yang berperan mempercepat proses resorpsi tulang (Boyce dkk, 2005).



Gambar 2.2 Mekanisme RANK *Independent* dan *Dependent* pada  $\text{TNF-}\alpha$  mediator osteoklastogenesis (Boyce dkk, 2005)

$\text{TNF-}\alpha$  bisa menginduksi berbagai sel, termasuk sel-sel sinovial, sel-sel T dan osteoblas/sel stroma, untuk meningkatkan ekspresi mereka terhadap RANKL,



yang mengikat RANK pada permukaan prekursor-prekursor osteoklas dan menginduksi differensiasi prekursor-prekursor osteoklas. TNF- $\alpha$  dapat mengikat reseptornya pada permukaan prekursor-prekursor osteoklas dan secara tidak langsung menginduksi differensiasi mereka menjadi osteoklas-osteoklas matang, kemudian meningkatkan aksi RANKL yang diinduksi secara tidak langsung (Boyce dkk, 2005).

Stimulasi terhadap RANKL dapat dikurangi oleh osteoprotegerin (OPG) yang mengikat RANKL dan menghambat interaksi antara RANKL dan RANK. Rasio ekspresi RANKL dan OPG penting dalam inflamasi induksi resorpsi tulang, termasuk periodontitis. Ketika konsentrasi OPG relatif meningkat daripada ekspresi RANKL, OPG mengikat RANKL, menghambatnya untuk mengikat RANK. Pencegahan berikatannya RANKL dengan RANK mengurangi pembentukan osteoklas dan terhadap osteoklas yang telah ada sebelumnya. Sebaliknya ketika ekspresi RANKL lebih tinggi dari OPG, RANKL bersiap untuk mengikat RANK pada prekursor-prekursor osteoklas, mengaktifkan pembentukan osteoklas dan terjadilah resorpsi tulang (Cochran, 2008).

## 2.6 Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup, lebih spesifiknya bakteri, yang aman untuk dikonsumsi manusia dan ketika dicerna dalam jumlah yang cukup memiliki efek menguntungkan bagi manusia. Definisi ini telah disetujui oleh PPB melalui lembaga *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan *World Health Organization* (WHO) (Bonifait dkk, 2009). Probiotik memiliki efek

menguntungkan terhadap host dengan jalan mencegah atau menyembuhkan penyakit tersebut (Barlow, 2010).

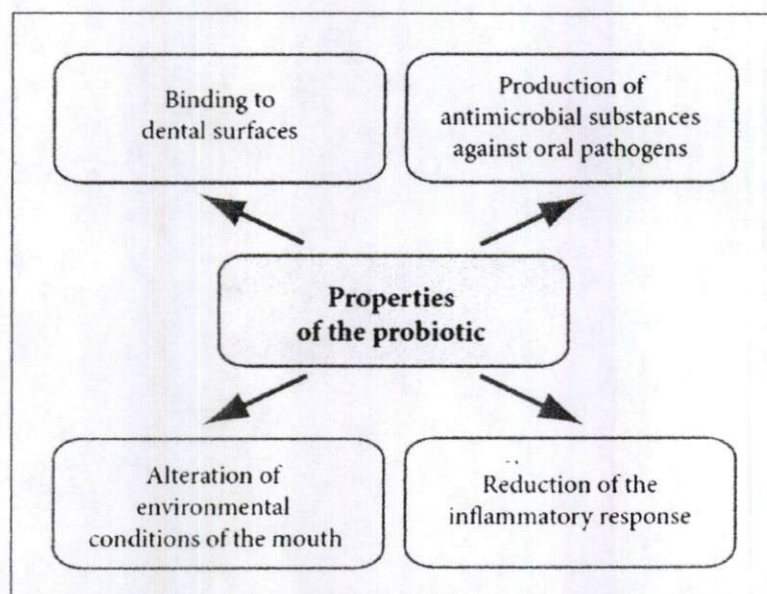
Aktivitas probiotik terbagi atas tiga aspek, yaitu nutrisi, fisiologis dan efek antimikroba. Aspek nutrisi berupa penyediaan enzim untuk membantu metabolisme komponen makanan, sintesis beberapa jenis vitamin, dan menghilangkan racun dari metabolit komponen makanan dalam usus. Aspek fisiologis meliputi kemampuan menjaga keseimbangan mikroflora usus dan menstimulasi sistem kekebalan usus. Aspek efek antimikroba meliputi kemampuan untuk meningkatkan ketahanan terhadap pengaruh negatif bakteri patogen (Usmiati dkk, 2011).

Beberapa penelitian yang mempelajari tentang strain *Lactobacillus* didapatkanlah hasil bahwa probiotik dapat mengurangi inflamasi gingiva dan jumlah bakteri *black – pigmented*, termasuk *Porphyromonas gingivalis* yang terdapat pada saliva dan plak sub gingival. Penggunaan bakteri yang bermanfaat seperti Bakteri Asam Laktat (BAL) kemudian ditambah dengan *scaling* dan *root planing* (SRP) dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada poket periodontal serta mengurangi *bleeding* pada probing yang dicobakan pada hewan. Penelitian klinis lainnya menunjukkan penurunan inflamasi gingiva kondisi sedang hingga berat serta kedalam probing pasien dewasa setelah menggunakan tablet probiotik secara teratur. Penelitian lainnya menyebutkan mengkonsumsi probiotik dalam bentuk sediaan permen karet selama 2 minggu dapat menurunkan produksi sitokin proinflamatori pada pasien gingivitis (Vivekananda dkk, 2010). Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Krasse, dkk terhadap *Lactobacillus reuteri* pada probiotik terhadap kesehatan periodontal. Penelitian ini dilakukan pada pasien



dengan gingivitis yang cukup parah, setelah mengonsumsi probiotik selama 14 hari ditemukan adanya penurunan indeks plak dan pengurangan keparahan dari penyakit gingivitis itu sendiri.

Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Riccia, dkk (2007) mempelajari efek anti inflamasi dari *Lactobacillus brevis* pada pasien periodontitis kronis. Penelitian ini menggunakan metode inhalasi dimana pasien menghisap pelega tenggorokan yang mengandung *Lactobacillus brevis* selama 4 hari. Setelah 4 hari adanya penurunan keparahan penyakit berdasarkan parameter klinis yang dapat dilihat yakni indeks plak, indeks gingiva dan perdarahan saat probing pada semua pasien. Selain indeks tersebut juga terdapat penurunan *prostaglandin* E2 (PGE2) dan *matrix metalloproteinases* (MMPs) pada saliva pasien. Pada kasus ini Riccia, dkk



Gambar 2.3 Mekanisme probiotik dalam penyembuhan penyakit di rongga mulut (Bonifait dkk, 2009).

mempunyai kesimpulan bahwa *Lactobacillus brevis* mempunyai kemampuan untuk menghambat oksida nitrit dan akibatnya aktivitas dari PGE2 dan MMPs yang diinduksi oksida nitrit dapat berkurang (Bonifait dkk, 2009).

Pemanfaatan probiotik pada penyakit periodontal sangat berkaitan erat dengan aktivitas imunitas yang dihasilkan oleh bakteri probiotik yang nanti dapat memperbaiki kerusakan yang ada karena berkaitan erat dengan proses pembentukan sel osteoblas. Selama proses fermentasi susu, *Lactobacillus helveticus* memproduksi *short peptide* yang berperan penting dalam pembentukan sel osteoblas dan meningkatkan osteogenesis yang dapat mengurangi resorpsi tulang pada kasus periodontitis (Joseph, 2014). Studi *in vitro* yang dilakukan oleh Nara, dkk menunjukkan bahwa *Lactobacillus, sp* menstimulasi pembentukan sel osteoblas. Dimana pembentukan sel osteoblas berperan penting dalam memperbaiki kerusakan tulang yang diakibatkan oleh penyakit periodontal (Chatterjee dkk, 2010).

## 2.5 Dadih

Dadiah merupakan probiotik tradisional masyarakat Sumatera Barat yang berasal dari fermentasi alami susu kerbau di dalam tabung bambu oleh mikroorganisme penghasil asam laktat yang terdapat secara alami pada air susu kerbau tersebut. Dadiah memiliki Bakteri Asam Laktat (BAL) yang berbeda di tiap-tiap daerah dan dapat diidentifikasi dengan menggunakan 16S rRNA. BAL merupakan kelompok besar bakteri menguntungkan yang memiliki sifat relatif sama (Purwanti dkk, 2011).





Gambar 2.4 Dadih mumi dalam tabung bambu  
(Purwanti, dkk 2011).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri asam laktat yang diperoleh dari hasil fermentasi. BAL mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat (Purwanti dkk, 2014). Bakteri asam laktat termasuk dalam grup bakteri gram positif, *anaerob*, tidak membentuk spora, bentuk *coccus* atau *bacillus*, asam laktat merupakan produk akhir yang utama dari fermentasi karbohidratnya. Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Purwanti, 2011).

Bakteri asam laktat yang terdapat dalam dadih dapat menghasilkan asam laktat yang bisa menghambat pertumbuhan mikroba yang merugikan, selain itu nisin sebagai hasil sampingan merupakan antibiotik alami yang bermanfaat untuk menetralkan bakteri patogen. Hal ini menunjukkan, dadih juga dapat digolongkan sebagai produk pangan probiotik karena merupakan produk hasil susu fermentasi dan mengandung asam laktat (Purwanti, 2011).

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, maka berkembang juga proses identifikasi bakteri-bakteri spesifik yang ada didalam dadih. Proses identifikasi ini melalui beberapa tahap sampai masing-masing bakteri dadih dikelompokkan dalam satu kelompok bakteri yang sama. Menurut Rostini (2007), dalam Purwanti (2011) bakteri yang termasuk kelompok BAL adalah *Aerococcus*, *Allococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* dan *Vagococcus*. Berikut merupakan bakteri yang dominan ditemukan pada dadih di Sumatera Barat :

**a. *Pediococcus pentosaceus***

*Pediococcus pentosaceus* sedang diteliti untuk dibudidayakan karena kemampuannya menghasilkan agen antimikroba dalam bentuk bakteriosin. *Pediococcus* adalah mikroba berbentuk *coccus*, gram positif, tidak membentuk spora dan dikategorikan sebagai BAL, karena produk akhir metabolisme adalah asam laktat. *Pediococcus pentosaceus* termasuk keluarga *Lactobacillaceae*. *Pediococcus pentosaceus* dapat dikultur pada 35 °C - 40 °C tetapi tidak dapat tumbuh pada 50 °C dan tumbuh di nilai pH antara 4.5 dan 8.0. *Pediococcus pentosaceus* merupakan bakteri khas yang ditemukan pada dadih Sumatera Barat.

**b. *Weissella paramesenteroides***

Menurut hasil penelitian Sujaya, Ramona, Widarini, Suarini, Dwipayanti, Nocianitri dan Nursini (2008) dalam Purwanti (2011) isolasi dan karakterisasi BAL dari susu kuda Sumbawa didominasi oleh bakteri *Weissella paramesenteroides* yang mempunyai bentuk sel batang pendek.



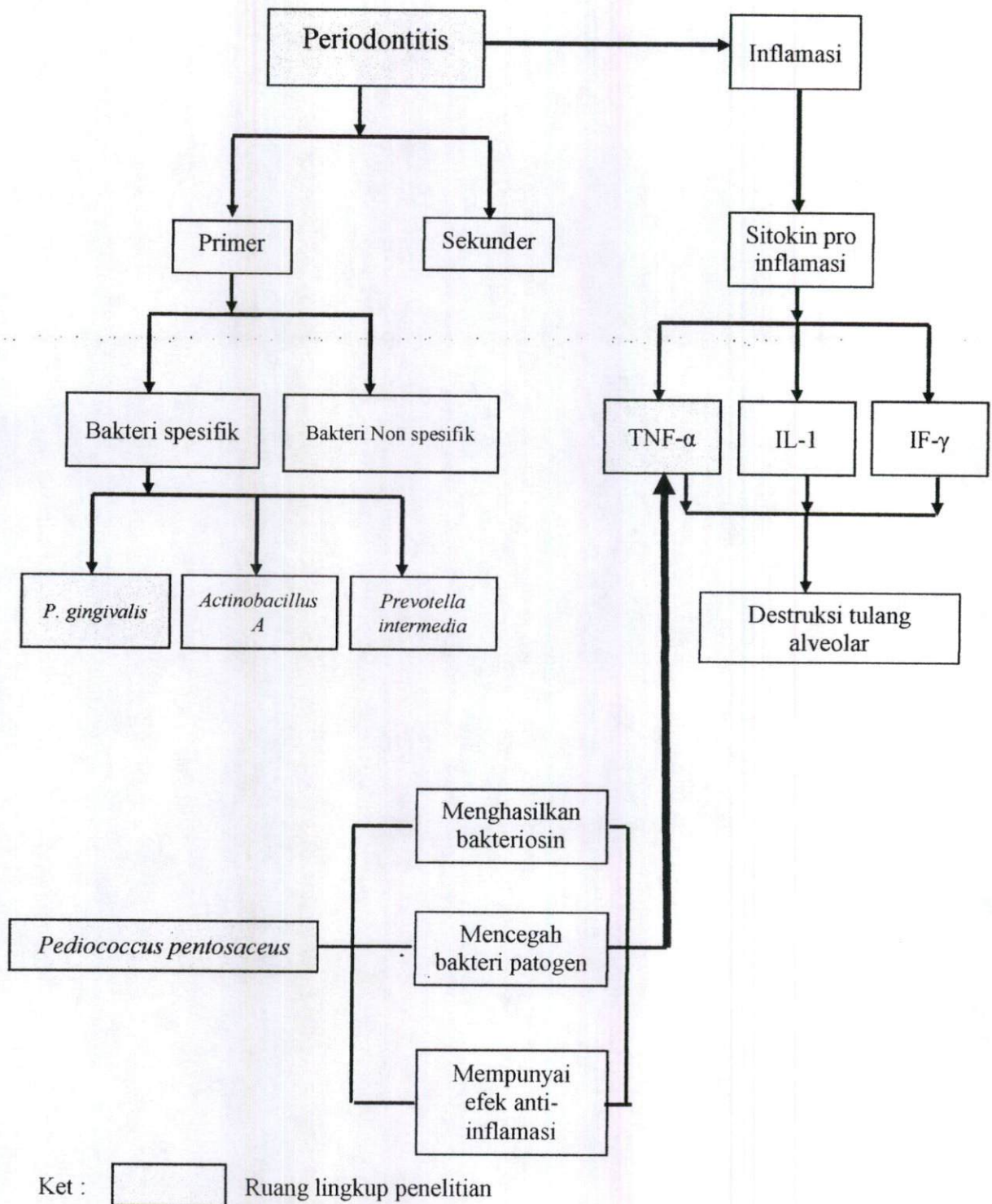
c. *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* merupakan gram positif, fakultatif anaerob, cocci yang terjadi sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek.

Salah satu ciri khas dari bakteri asam laktat adalah produksi bakteriosinnya. Bakteriosin sering diartikan sebagai protein dengan efek antagonistik sebagai bakterisidal atau bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri. Bakteriosin bersifat tahan panas pada pH rendah, sedangkan pada pH alkalis bakteriosin menjadi inaktif. Bakteriosin mempunyai mekanisme kerja tertentu untuk menghambat bakteri lain untuk melakukan aktivitasnya, bakteriosin ini harus masuk kedalam sel sasarannya melewati dinding atau membran sitoplasma untuk masuk dan teradsorpsi kedalam sel sasarannya dan ini bergantung pada permeabilitas dinding atau membran sel bakteri sasaran bakteriosin. Beberapa mekanisme kerja bakteriosin dalam menghambat bakteri sasarannya dapat berupa : penghambatan sintesis protein, penghambatan komponen dinding atau membran sel, kerusakan komponen intraseluler seperti ribosom atau ATP. Seperti nisin yang dihasilkan oleh *Lactococcus lactis* dapat menyebabkan kebocoran membran sitoplasma pada sel sasaran sehingga dapat mengganggu atau merusak komponen esensial bakteri sasaran bakteriosin tersebut.

Penelitian terhadap *Pediococcus pentosaceus* ini masih belum banyak dan populer membuat penelitian- penelitian probiotik secara umum yang dilakukan sebelumnya menjadi acuan untuk penelitian *Pediococcus pentosaceus* karena secara fungsi semua bakteri probiotik memiliki fungsi dan manfaat yang sama.

## 2.6 Kerangka teori





## 2.7 Penjelasan Kerangka Teori

Periodontitis disebabkan oleh faktor primer dan faktor sekunder. Faktor primer yang paling berperan adalah infeksi dari bakteri. Ada dua teori terkait bakteri yang berperan pada penyakit periodontal yakni teori : bakteri spesifik dan bakteri non spesifik. Bakteri-bakteri spesifik yang telah diketahui dapat menyebabkan periodontitis adalah *P. Gingivalis*, *Actinobacillus A* dan *Prevotella intermedia*.

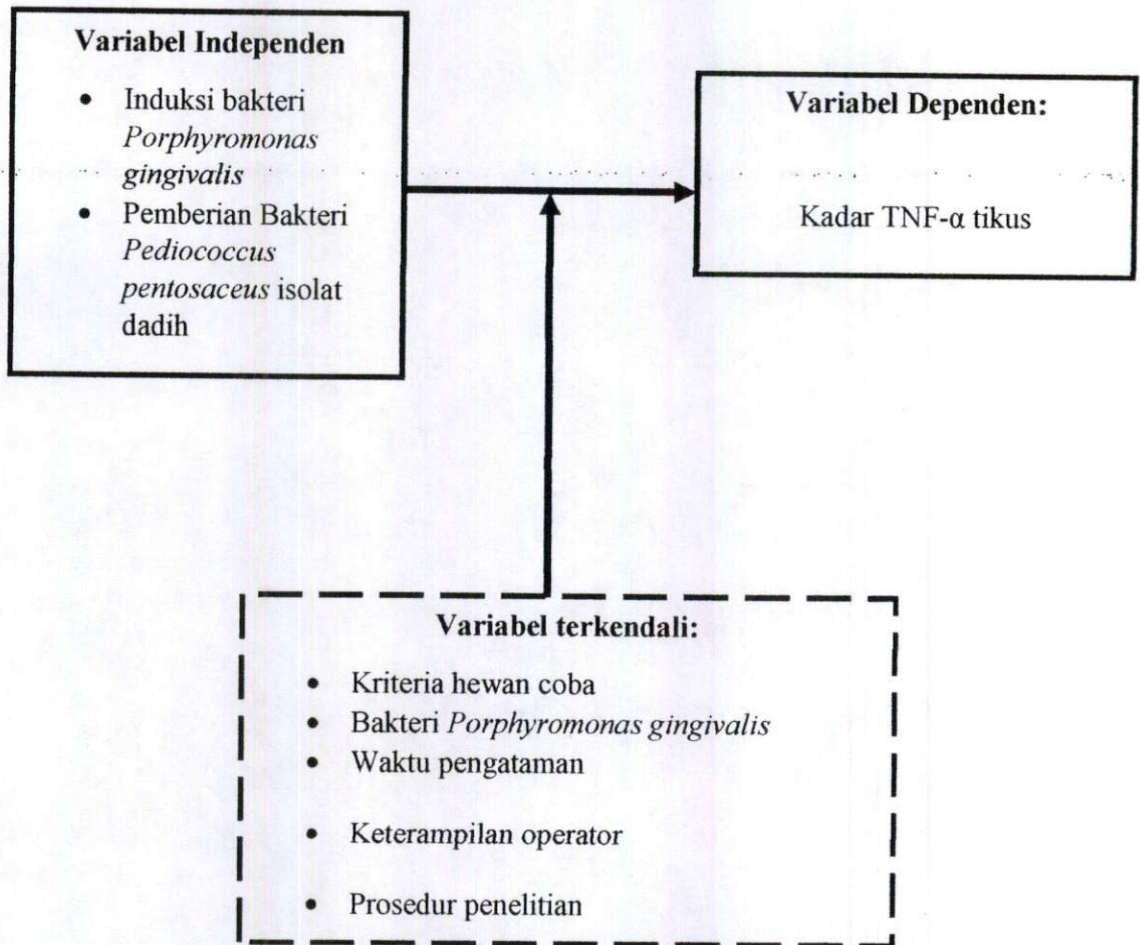
Pada kondisi periodontitis dimana terjadi proses inflamasi yang akan merangsang sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 dan IF- $\gamma$ . Dimana sitokin-sitokin inflamasi tersebut berperan penting pada proses destruksi tulang alveolar.

*Pediococcus pentosaceus* merupakan bakteri khas yang ditemukan pada isolasi dadih Sumatera Barat, *Pediococcus pentosaceus* yang merupakan probiotik diketahui memiliki 3 efek didalam melawan bakteri patogen yakni : (1) Menghasilkan bakteriosin, (2) mencegah bakteri patogen, dan (3) Mempunyai efek anti inflamasi. Dimana ketiga efek diatas mempunyai dampak didalam menurunkan kadar TNF- $\alpha$  yang menjadi variabel penelitian.

## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN DEFENISI OPERASIONAL

#### 3.1. Kerangka Konsep



#### 3.2. Variabel

##### 3.2.1 Variabel Independen

Variabel Independen pada penelitian ini adalah :

- Pemberian Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih.



- b. Induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

### 3.2.2 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah: kadar TNF- $\alpha$  tikus

### 3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

- a. Kriteria hewan coba
- b. Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
- c. Bakteri *Pedococcus pentosaceus*
- d. Waktu pengamatan
- e. Keterampilan operator
- f. Prosedur penelitian

### 3.3. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

1. Kadar TNF- $\alpha$  Kelompok Kontrol Negatif

Batasan : Tidak diberikan perlakuan

Cara ukur : metode *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA)

Alat ukur : microplate reader set

Hasil Ukur : ng/ml

Skala Ukur : ratio

2. Kadar TNF- $\alpha$  Kelompok Kontrol Positif

Batasan : Diberikan Injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama  
15 hari

Cara ukur : metode *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA)

Alat ukur : microplate reader set

Hasil Ukur : ng/ml

Skala Ukur : ratio

### 3. Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok perlakuan

Batasan : Diberikan Injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan bakteri *Pediococcus pentosaceus* selama 5 hari

Cara ukur : metode *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA)

Alat ukur : microplate reader set

Hasil Ukur : ng/ml

Skala Ukur : ratio

### 3.4. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dan sehubungan dengan permasalahan. Dapat ditarik sebuah hipotesa “Terdapat pengaruh bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*”.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian : Eksperimental laboratorium

Rancangan penelitian : Postes dengan kelompok kontrol

Bentuk rancangan postes dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2010).

	Perlakuan	Postes
R (Kelompok Eksperimen)	X	02
R (Kelompok kontrol)		02

Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL dapat didefinisikan sebagai rancangan dengan beberapa perlakuan yang disusun secara random untuk seluruh unit percobaan. Rancangan ini dipilih karena penelitian dilakukan dilaboratorium dan lingkungan dapat dikontrol (Nazir, 2003) dalam (Kosasih, 2013).

#### 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan, *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas pada bulan Januari 2015 sampai bulan Maret 2015.

### 4.3 Populasi dan Sampel

#### 4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah hewan coba tikus (ratus) jenis wistar dengan jenis kelamin jantan. Jenis kelamin jantan dipilih karena secara hormonal tikus wistar jantan lebih stabil dari pada tikus betina dan tikus betina bisa mengalami fase estrus dan hamil.

#### 1.3.2 Sampel Penelitian

Total sampel pada penelitian ini adalah sebanyak **27 ekor** dengan jumlah masing-masing unit ulangan ekor sesuai dengan rumus federrer dalam Asviandri : (Asviandri, 2013)

$$\{ (t - 1) (n - 1) \} \geq 15$$

$$\{ (6 - 1) (n - 1) \} \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$n \geq \frac{20}{5}$$

$$n \geq 4$$

Dimana :

n = Jumlah hewan coba tiap kelompok

t = Jumlah kelompok



Total :  $3 \times 4 \times 2 = 24$  ekor sampel + drop out : 10% = 27 ekor sampel

#### 4.3.3 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel diambil dengan teknik *purposive sampling* yakni didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri, berdasarkan ciri atau sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya (Notoatmodjo, 2010).

Penelitian saat ini mempunyai kriteria sampel yakni :

Inklusi :

1. Tikus yang digunakan adalah jenis wistar
2. Jenis kelamin tikus adalah jantan
3. Kondisi fisik sehat serta tidak mengalami kelainan
4. Umur 3 bulan dan berat badan antara 170 – 200 gram. Dengan alasan perubahan berat badan selama penelitian relatif kecil dan gigi molar sudah tumbuh sempurna (Yustina dkk, 2012)
5. Pemberian pakan dan minuman yang sesuai serta seragam

Eklusi :

1. Mati selama proses penelitian
2. Tidak dapat dilakukan proses pengambilan darah pada tikus

#### 4.4 Bahan dan Alat Penelitian

##### Bahan

1. 27 ekor tikus wistar jantan
2. Bakteri *Porphyromonas Gingivalis*
3. Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih
4. Media cair *de Monitol Rogosa Salt Broth (MRS-B)*
5. Media cair *de Monitol Rogosa Salt Agar (MRS-A)*
6. *Brain Heart Infusion Agar (BHI – A)*
7. *Brain Heart Infusion Broth (BHI - B)*
8. *Yeast Extract*
9. *Hemin*
10. *Vitamin K*
11. Klorofom
12. *Phosphate Buffer Saline*
13. Alkohol
14. Aquades steril
15. Cairan Spritus
16. Kapas steril
17. Kertas saring
18. Minuman dan makanan standar tikus wistar
19. *Preenrichment*
20. *Alumunium foil*
21. *Anti Rat TNF Biotin Conjugate*



22. *Streptavidin Alkaline Conjugate*

23. *Adhesive cover*

24. *Washing Buffer*

Alat :

1. *Anaerobic jar*
2. *Eppendorf*
3. *Serum separator tube*
4. *Magnetic stirrer*
5. *Hockey stick*
6. *Lampu spiritus*
7. *Lamina flow*
8. *Quebec Colony Counter*
9. Kandang + tempat makan dan minum tikus wistar
10. Jarum suntik ukuran 30G
11. Tabung reaksi
12. *Petridish*
13. Neraca ohaus
14. Inkubator
15. *Autoclave*
16. Gelas ukur
17. *Erlenmeyer*
18. *Beaker glass*
19. Ose

20. Lampu Spritus
21. *Vibrator*
22. *Stopwatch*
23. Kompur
24. Panci
25. Sarung tangan
26. Masker
27. Lemari Pendingin
28. Kit ELISA merek *eBioscience* Nomor katalog 88-7340
29. *Microplate reader set*
30. Spektrofotometer

#### **4.5 Prosedur Kerja**

##### **4.5.1 *Ethical clearance***

Sesuai dengan standar etik penelitian kesehatan dengan dilibatkannya hewan coba berupa tikus wistar jantan, mengharuskan untuk adanya *Ethical clearance*. *Ethical clearance* didapat dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

##### **4.5.2 Persiapan Hewan Coba**

Hewan diaklimatisasi sebelum diberi perlakuan untuk mengadaptasikan tikus dengan tempat dan makanan. Proses aklimatisasi dilakukan selama 7 hari dengan menggunakan kandang individu dan mendapat pakan standar BR 2 sebanyak 15 g/hari serta minum *ad libitum* (Sari, 2012).



#### 4.5.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu :

1. Kelompok 1 merupakan kontrol negatif yakni kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan.
2. Kelompok 2 merupakan kontrol positif yakni kelompok perlakuan yang diberi induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari.
3. Kelompok 3 merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan diberikan Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari.

#### 4.5.4 Pembuatan sediaan bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Pembuatan sediaan / kultur bakteri *Porphyromonas gingivalis* menurut Nitawati dkk, (2014) ialah:

1. Pembuatan BHI-A dengan cara 3,7 gram BHI-A dicampur dengan 100 ml aquades steril dalam tabung erlenmeyer, selanjutnya dipanaskan dengan kompor listrik sampai homogen. Setelah itu ditutup kapas dan disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian ditambah 50µl hemin, 10µl vitamin K dan 500µl *yeast extract* lalu dihomogenkan. Untuk mengetahui media BHI-A steril dilakukan uji sterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.
2. Pembuatan media BHI-B dilakukan dalam tabung erlenmeyer dengan cara 3,7 gram BHI-B ditambah 10 ml aquadest steril. Kemudian

dipanaskan dengan kompor listrik sampai homogen. Setelah itu ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan 5µl hemin, 1µl vitamin K dan 50µl *yeast extract*. Kemudian dilakukan uji sterilisasi dengan memasukkan media BHI-B ke dalam inkubator selama 24 jam.

3. Pembuatan suspensi *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dalam tabung reaksi dengan cara 2 ml media BHI-B ditambahkan 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Suspensi *Porphyromonas gingivalis* tersebut dimasukkan kedalam *decycator* untuk mendapat suasana anaerob, kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 2x24 jam.
4. Suspensi *Porphyromonas gingivalis* diencerkan dengan konsentrasi 5µg/0,05mL dengan aplikasi tiap perlakuan sebanyak 0,02mL (Permana dkk, 2013).

#### 4.5.5 Pembuatan sediaan Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih

Langkah-langkah yang dilakukan dalam menghitung total koloni BAL untuk pembuatan sediaan bakteri penelitian menurut (Purwati, Syukur dan Hidayat, 2005) adalah :

- a. Semua peralatan yang dibutuhkan seperti : cawan petri (*petridish*), tabung reaksi, Erlenmeyer, *eppendorf*, tip pipet mikro, *hockey stick*, disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 15 lbs.
- b. Dipersiapkan media *preenrichment* yaitu dengan melarutkan 16.443 g *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth (Merck) dalam 315 ml aquades untuk 7 sampel dan sampai pengenceran  $10^{-5}$  (Pembuatan secara umum



adalah 52,2 g MRS Broth dalam 1000 ml aquades). Selanjutnya dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer*, lalu dipanaskan dengan kompor listrik pada suhu 100 °C, setelah agak dingin ( $\pm 55$  °C) lalu dituang ke dalam Erlenmeyer kemudian di *autoclave* (15 menit, 121 °C dan tekanan 15 lbs).

- c. Dipersiapkan media *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Agar (Merck) dengan melarutkan 6.951 g MRS Agar dalam 105 ml aquades (Pembuatan secara umum adalah 66,2 g MRS Agar dalam 1 000 ml aquades), kemudian dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer*, lalu dipanaskan dengan kompor listrik pada suhu 100 °C, lalu di *autoclave*, setelah agak dingin ( $\pm 55$  °C) lalu dituang ke dalam 7 cawan petri masing-masing sebanyak  $\pm 15$  ml.
- d. Dengan menggunakan sendok steril dan *aluminium foil* dadih ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth, lalu divortex sampai homogen. Hasil ini disebut pengenceran  $10^{-1}$ .
- e. Hasil pengenceran tersebut diambil 1000  $\mu$ l dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth, lalu divibrator sampai homogen. Hasil pengenceran ini disebut dengan pengenceran  $10^{-2}$ , begitu seterusnya sampai pada pengenceran  $10^{-5}$ .
- f. Dari pengenceran  $10^{-5}$  diambil 100  $\mu$ l sampel dan ditanam dengan metode spread pada *petridish* yang telah berisi media MRS Agar beku dengan mikro pipet 100  $\mu$ l, kemudian diratakan dengan *hockey stick*

yang sebelumnya telah diberi alkohol dan dibakar dengan api, semuanya dikerjakan di dalam *lamina flow* dan di dekat bunsen.

- g. Inokulum disimpan dalam *anaerob jar* lalu dimasukkan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C dan dilakukan pengkodean petridish dengan menandai masing-masing *petridish*.
- h. Setelah 24 jam, koloni bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan alat *quebec colony counter*. Hasil perhitungan dikalikan 10 kemudian dikalikan dengan sepepengenceran dan sepeberat sampel, seperti rumus CFU dibawah ini: Total koloni BAL  
(CFU/*Colony Forming Unit*)/gram) =

$$\text{Jumlah Koloni} = \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{berat sampel}}$$

#### 4.5.6 Prosedur Perlakuan

##### a. Aplikasi bahan perlakuan

##### 1. Injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Setiap akan diberikan perlakuan berupa suntikan bakteri *Porphyromonas gingivalis* sebelumnya hewan coba dibius dengan klorofom. Tikus dimasukan kedalam toples yang sesuai kemudian kapas yang ditetesi klorofom dengan dosis 0,5 ml toples ditutup dan ditunggu hingga tikus tidak bereaksi.

Pengaplikasian bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada hewan coba ialah dengan menyuntikan bakteri pada *Junctional epithelium* di sulkus gingival pada gigi molar pertama rahang atas sebelah kiri. Dosis *Porphyromonas gingivalis* didasarkan pada penelitian



Permana,dkk (2013) yakni dengan konsentrasi  $5\mu\text{g}/0,05\text{mL}$  dengan aplikasi tiap perlakuan sebanyak  $0,02\text{ mL}$  serta jarum yang digunakan ukuran 30G. Kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diinduksi 3x dalam seminggu selama 15 hari. Pemilihan waktu induksi didasarkan pada penelitian Molon, dkk (2014) dimana pada kelompok intervensi yang diamati pada hari ke 15 ditemukan ekspresi sitokin pro inflamasi yang tinggi.

## **2. Aplikasi Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih**

Sediaan Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih diaplikasikan melalui sublingual selama 5 hari. Dosis penelitian kali ini didasarkan pada penelitian Yuliawati, dkk (2012) yakni sebanyak 1 cc/ perlakuan dengan total koloni bakteri minimal sebanyak  $2 \times 10^8$  cfu/ml.

### **b. Pengambilan Serum Darah**

1. Pengambilan serum darah pada penelitian ini dilakukan berdasarkan waktu intervensi masing-masing kelompok. Kelompok I dan II, serum darah diambil pada hari ke 16 yakni setelah induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang dilakukan selama 15 hari. Kelompok III serum darah diambil pada hari ke 21 yakni setelah induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* 15 hari dilanjutkan dengan induksi bakteri *Pediococcus pentosaceus* selama 20 hari.
2. Darah masing-masing sampel diambil melalui vena lingual sebanyak 1 cc menggunakan jarum 3 cc setelah itu dimasukan kedalam *serum separator tube* .

3. Darah disentrifus dan diambil serumnya dan pada kelompok I dan II sementara serum disimpan didalam *freezer*.
4. Setelah semua serum lengkap, preparat pemeriksaan ELISA segera dibuat menggunakan *Rat TNF- $\alpha$  Elisa Test Kit* merek ebioscience.

**c. Penghitungan TNF- $\alpha$**

Pemrosesan serum yang telah diambil hingga penghitungan kadar TNF- $\alpha$  dilakukan oleh laboran yang telah terlatih dalam melakukan test ELISA. Adapun langkah yang akan dilakukan ialah :

1. Persiapan *detector complex* dengan cara mencampur *antimouse TNF-biotin conjugate* dengan *streptavidin alkaline conjugate* dalam volume sama banyak. Persiapan 60 x N  $\mu$ L untuk tiap reagen (N adalah jumlah sumuran yang akan digunakan untuk assay). Campuran tersebut disimpan disuhu ruangan sampai digunakan. Waktu antara persiapan dan pemakaian sekitar 60-90 menit.
2. Transfer 150 $\mu$ L sampel dan kontrol ke dalam sumuran *plate* 96 dengan replikasi 2 kali kemudian *plate* ditutup dengan *adhesive cover* secara hati-hati untuk menghindari gelembung udara di dalam sumuran dan melekatnya larutan dalam *plate* pada *cover*.
3. Selanjutnya diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 37°C. Masa inkubasi dapat diperpanjang sampai 3 jam untuk meningkatkan nilai OD setelah itu buka *cover* dengan hati-hati, aspirasi semua sumuran, tambahkan 300  $\mu$ L *washing buffer* pada tiap sumuran dan diaspirasi lagi.



4. Ulangi pencucian sebanyak dua kali, kemudian aspirasi dapat diulang sekali lagi untuk membersihkan semua sisa *washing buffer*. Kemudian tambahkan 100  $\mu$ L *detector complex* pada masing-masing sumuran secara hati-hati jangan sampai menyentuh permukaan sumuran.
  5. Tutup *plate* dengan *adhesive cover* dan diinkubasikan selama 1 jam pada suhu 37°C. Menjelang akhir inkubasi segera larutkan 2 mL substrat *buffer* menjadi 20 mL dengan akuades.
  6. Tambahkan 2 tablet substrat dengan menggunakan pinset steril ke dalam buffer dan dilarutkan dengan *vortex mixer*. Pastikan bahwa substrat telah terlarut homogen. Substrat pNPP ini harus disimpan di tempat gelap atau ditutup dengan aluminium foil dan digunakan dalam waktu 30 menit.
  7. *Plate* dikeluarkan dari inkubator dan ulangi prosedur pencucian dan tambahkan 100  $\mu$ L substrat pNPP pada masing-masing sumuran dan tutup dengan *adhesive cover* dan inkubasikan pada 30°C, hindari pemaparan dengan lampu atau dapat ditutup dengan *aluminium foil*.
- d. Setelah inkubasi selama 30 menit, dan dalam interval 30 menit, dapat dilakukan monitoring pembentukan warna dan hilangkan semua gelembung udara sebelum melakukan monitoring. Nilai *absorbance* pada 405 nm untuk 7000 pg/mL standar harus antara 1,0 - 2,0 *absorbance* unit sebelum pembacaan akhir ditentukan. Jika nilai tersebut telah dicapai maka reaksi dihentikan dengan menambah 30  $\mu$ L NaOH 3M untuk masing-masing sumuran. Setelah itu dilakukan pembacaan dengan spektrofotometer pada *absorbance* 450 nm

#### e. Perlakuan Selanjutnya

Penelitian skripsi saat ini dibatasi pada pengambilan serum dan uji TNF-  $\alpha$  dan selanjutnya tikus akan tetap diintervensi dengan suntikan *Porphyromonas gingivalis* untuk melihat pola resorpsi tulang yang terjadi pada tikus.

### 4.6 Pengolahan dan Analisa Data

#### 4.6.1 Pengolahan Data

Dalam pengolahan data dilakukan langkah-langkah sebagai berikut :  
(Notoatmodjo, 2010)

- a. *Editing* yaitu kegiatan memeriksa kembali data yang telah dikumpulkan apakah sudah lengkap dan benar.
- b. *Coding* yaitu peneliti memberi kode pada setiap data dan informasi yang sudah dikumpulkan untuk mempermudah *entry* data.
- c. *Entry* yaitu memasukkan data yang telah diedit dan diberi pengkodean kemudian diproses kedalam program statistik komputer.
- d. *Tabulating* (tabulasi data) yaitu mengelompokkan dan memasukkan data ke dalam kategori sampel berbentuk tabel distribusi frekuensi.
- e. *Cleaning* (membersihkan data) yaitu pengecekan kembali kelengkapan data sebelum dilakukan analisis.



## 4.6.2 Analisa Data

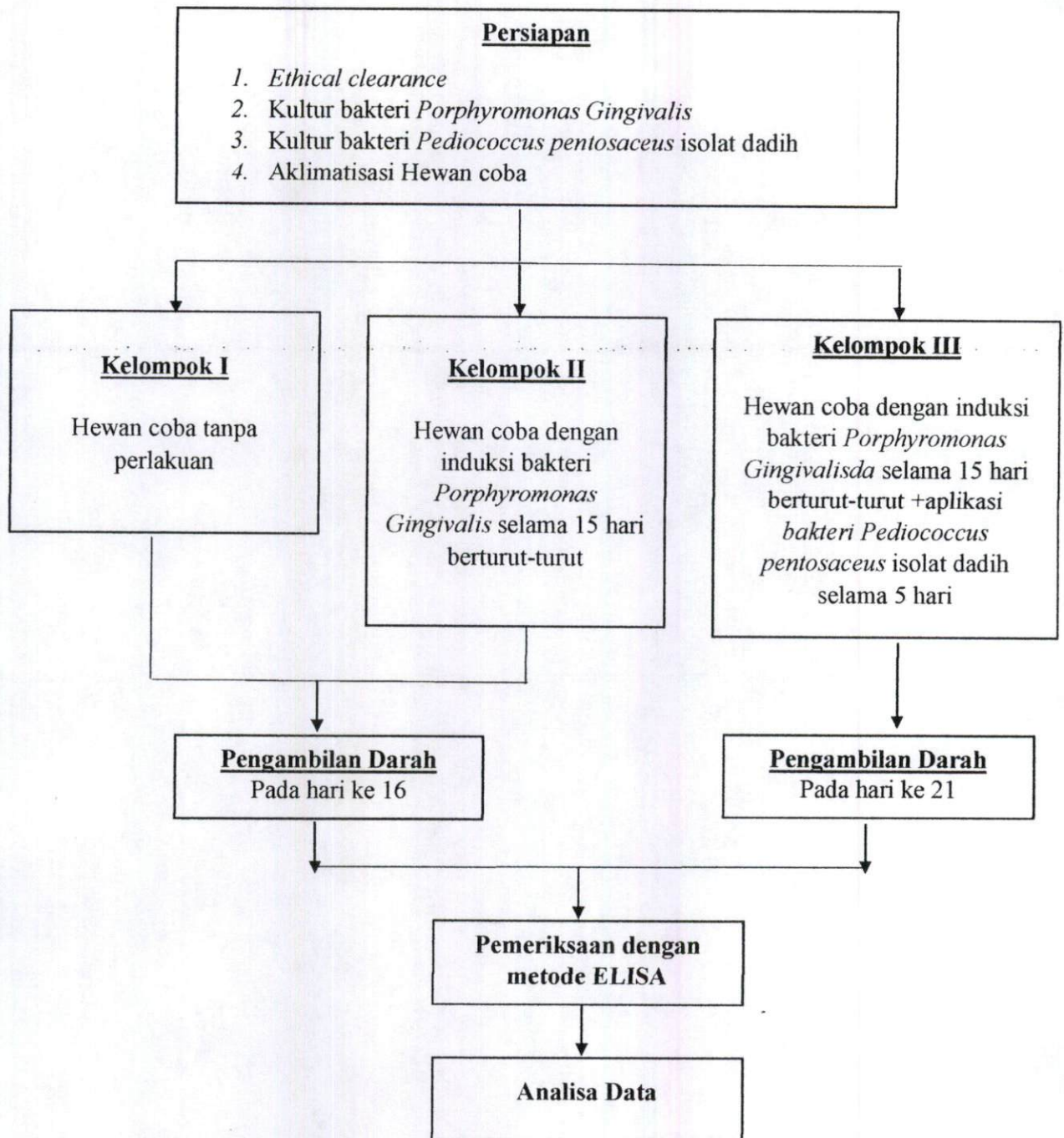
### 4.6.2.1 Analisis Univariat

Analisis univariat adalah analisis uraian untuk mengetahui distribusi frekuensi dari variabel yang diamati yaitu variabel dependen (Kadar TNF- $\alpha$  tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan kadar TNF- $\alpha$  tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan bakteri *Pediococcus pentosaceus*) dan variabel independen (Induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan induksi bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih) sehingga dapat diketahui karakteristik atau gambaran dari variabel yang diteliti.

### 4.6.2.2 Analisis Multivariat

Data hasil penelitian ini diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk* dan diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Analisis dilanjutkan dengan *one way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) dan untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing kelompok digunakan uji posthoc *LSD* (Dahlan, 2000).

#### 4.7 Alur Penelitian





## BAB 5

### HASIL DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini dengan jenis eksperimental laboratoris mempunyai tujuan mengetahui pengaruh pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jenis wistar yang berjumlah 21 ekor dengan *dropout* sebanyak 6 ekor sehingga mempunyai total 27 ekor. Sampel tersebut dibagi didalam 3 kelompok, yakni : (1) Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan; (2) Kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif yang diberi induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari (3) Kelompok 3 merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* selama 15 hari dan diberikan Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari.

Bakteri yang digunakan adalah suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan *Pediococcus pentosaceus*. Total koloni bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah : bakteri *Porphyromonas gingivalis*  $8,2 \times 10^8$  CFU/ml dan bakteri *Pediococcus pentosaceus*  $4,4 \times 10^9$  CFU/ml. Total sampel yang diambil untuk dilakukan uji TNF- $\alpha$  adalah sebanyak 21 sampel dengan rincian : kelompok kontrol negatif sebanyak 7 sampel, kelompok kontrol positif sebanyak 7 sampel dan kelompok perlakuan sebanyak 7 sampel. Pada kelompok kontrol negatif dengan total sampel awal sebanyak 9

sampel tidak dapat diambil semuanya, dua tikus pada kelompok tersebut tidak kooperatif pada saat pengambilan darah sehingga tidak dapat diambil darahnya sehingga dikeluarkan sebagai sampel penelitian. Pada kelompok kontrol positif dengan total sampel awal sebanyak 9 sampel tidak dapat diambil semua darah sampel dikarenakan 2 sampel mati selama proses induksi. Pada kelompok perlakuan dengan total sampel awal sebanyak 9 sampel tidak dapat diambil semua darah sampel dikarenakan 2 sampel mati selama proses induksi. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Kadar TNF- $\alpha$  pada semua kelompok uji

	<i>Kadar TNF- <math>\alpha</math> ng/ml</i>		
	<b>Kelompok Kontrol Negatif</b>	<b>Kelompok Kontrol Positif</b>	<b>Kelompok Perlakuan</b>
<i>Rata-rata</i>	0,22	0,32	0,06
<i>Minimum</i>	0,08	0,13	0,01
<i>Maksimum</i>	0,32	0,96	0,151
<i>Standar Deviasi</i>	0,11	0,29	0,005
<i>n</i>	7	7	7

Tabel diatas menunjukkan bahwa, terjadi peningkatan jumlah TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol negatif dan positif serta terjadi penurunan pada kelompok perlakuan.

Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah *One way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan diantara masing-masing variabel. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk dan uji homogenitas menggunakan uji Levene



Uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk menunjukkan hasil kelompok kontrol negatif dengan  $p = 0,045$ , kelompok kontrol positif dengan  $p = 0,02$ , dan kelompok perlakuan dengan  $p = 0,363$ . Data diatas bermakna terdapat 2 kelompok yang mempunyai distribusi data tidak normal ( $p < 0,05$ ) sehingga untuk melakukan uji *One Way ANOVA* harus dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Setelah data ditransformasi menunjukkan hasil kelompok kontrol negatif dengan  $p = 0,056$ , kelompok kontrol positif dengan  $p = 0,138$ , dan kelompok perlakuan dengan  $p = 0,685$ . Data diatas bermakna distribusi data normal ( $p > 0,05$ ).

Uji Homogenitas menggunakan uji Levene. Hasil yang didapat yakni  $p = 0,350$  dimana  $p > 0,05$  mempunyai makna semua kelompok mempunyai varians data yang sama. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One way ANOVA*. Pada uji *One way ANOVA* didapatkan hasil  $p = 0,01$  dimana  $p < 0,05$  mempunyai arti bahwa semua kelompok perlakuan mempunyai perbedaan yang bermakna. Setelah hasil ANOVA didapat, maka dilakukan uji *Least Significant Difference (LSD) test* untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada masing-masing kelompok.

Tabel 5.2 Uji LSD

Kelompok perlakuan	Perbandingan	p
Kontrol negatif	Kontrol positif	0,555
	Perlakuan	0,002*
Kontrol positif	Kontrol negatif	0,555
	Perlakuan	0,001*
Perlakuan	Kontrol positif	0,001*
	Kontrol negatif	0,002*

Hasil uji LSD menunjukan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan dan kontrol positif serta kontrol negatif ( $P < 0,005$ ) serta tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dan kontrol negatif ( $P > 0,005$ ).



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Penelitian

Penyakit periodontal adalah infeksi umum yang membutuhkan perawatan kesehatan mulut yang serius. Penyakit periodontal berhubungan dengan infeksi bakteri gram negatif. Gram negatif dapat mengeluarkan endotoksin untuk melakukan infeksi ulangan pada host, yang biasanya dimulai dari tepi sulkus gingiva, dan bertahap hingga ke bagian yang lebih dalam, termasuk hancurnya ligamen periodontal dan tulang alveolar, untuk itu dibutuhkan penelitian mengenai perubahan inflamasi jaringan periodontal (Liao dkk, 2013). Penelitian saat ini menggunakan hewan coba tikus sebagai model penelitian.

Penelitian ini menggunakan metode induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* untuk menjadikan jaringan periodontal tikus menjadi inflamasi. Induksi dilakukan pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan selama 15 hari pada molar pertama kiri rahang atas tikus. Setelah 15 hari induksi, tikus kelompok kontrol negatif dan kontrol positif diambil darahnya dan diperiksa kadar TNF- $\alpha$  masing-masing kelompok. Pengambilan darah yang direncanakan melalui vena lingual tidak jadi dilakukan dikarenakan tidak memenuhi syarat darah minimum dari vena lingual tersebut, berdasarkan referensi pengambilan darah dilakukan dari vena aorta.

Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif mempunyai nilai rata-rata  $0,22 \pm 0,11$  ng/ml sedangkan kelompok kontrol positif mempunyai nilai rata-rata  $0,32 \pm 0,29$  ng/ml.

Pada kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang berhubungan dengan meningkatnya kadar stres tikus pada saat pengambilan darah, dimana kontrol negatif sebelumnya tidak pernah diberikan perlakuan apa-apa. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Madrigal dkk, 2002 mengenai peningkatan kadar TNF- $\alpha$  setelah diberikan paparan stres. Hasilnya ialah terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  pada korteks setelah 1 jam diinduksi stres. Kejadian ini didahului dengan peningkatan TNF Converte (TACE) dikorteks otak setelah 30 menit terpapar stres. Salah satu kelemahan pengujian TNF- $\alpha$  adalah tidak spesifiknya sumber inflamasi yang menjadi peningkatan TNF-  $\alpha$ , sehingga dibutuhkan penelitian lanjutan yang lebih spesifik.

Perbedaan yang tidak signifikan antara kontrol negatif dan kontrol positif bisa disebabkan karena waktu meningkatnya sitokin pro inflamasi dalam kondisi akut tidak berlangsung lama kemudian disusul meningkatnya sitokin anti inflamasi sehingga kondisi seperti ini perlu diperhatikan apabila ingin menilai kadar sitokin yang muncul pada saat terjadinya inflamasi.

Pada kelompok kontrol positif juga mengalami peningkatan TNF- $\alpha$  yang disebabkan karena induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Peningkatan kadar sitokin pro inflamasi pada jaringan periodontal sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Molon, dkk (2014), mengenai variasi dari respon mencit yang diinduksi penyakit periodontal. Dimana pada kelompok yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 mengalami peningkatan Ekpresi sitokin pro inflamasi pada pemeriksaan hari ke 15 hari.

Peningkatan siktoin pro inflamasi ini sesuai dengan yang dipelajari oleh Mysak dkk (2013). Pada penyakit periodontal dimana salah satu bakteri gram



negatif yang berperan adalah *Porphyromonas gingivalis*, yang dalam aktivitasnya akan menghasilkan endotoksin berupa lipopolisakarida. Lipopolisakarida dari *Porphyromonas gingivalis* merupakan faktor utama pada perkembangan penyakit periodontal. Fibroblast gingiva yang merupakan jaringan ikat gingiva utama dapat langsung berinteraksi dengan *Porphyromonas gingivalis* dan produk bakterinya seperti lipopolisakarida. Lipopolisakarida dapat mengaktifkan reaksi inflamasi pada host yang dapat menjadi tanda bagi host bahwa adanya infeksi yang sedang terjadi. Salah satu bentuk reaksi inflamasi adalah pengeluaran sitokin. Salah satu sitokin yang tinggi pada saat terjadinya infeksi periodontal adalah TNF- $\alpha$ .

Tanda klinis yang muncul pada rongga mulut tikus yang terjadi pada kontrol positif dan perlakuan pada hari ke 7 adalah area sekitar gusi yang diinduksi bewarna merah dan bengkak apabila dibandingkan dengan sisi lainnya, warna kemerahan jelas terlihat apabila efek anestesi kloroform sudah mulai hilang pada tikus. Kemerahan dan bengkak pada daerah yang diinduksi sama dengan penelitian yang diamati oleh Nitawati, dkk (2014). Pada penelitian tersebut kemerahan, bengkak disertai perdarahan dimulai pada hari ke 2 pasca induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Salah satu tanda klinis inflamasi lainnya adalah ditemukannya *Chromodacryorrhea* pada hari ke 9 – 15. Seperti yang diungkapkan *American College of Laboratory Animal Medicine Series* tahun 2006, *Chromodacryorrhea* merupakan kondisi yang sering dijumpai pada tikus laboratorium dan banyak dilaporkan. Dipicu oleh kondisi stres dan merupakan tanda awal terjadinya infeksi didalam tubuh tikus. Tanda klinis yang paling umum dijumpai adalah warna merah yang muncul disekeliling mata.

Setelah diinduksi inflamasi periodontal selama 15 hari, kelompok perlakuan diberikan bakteri probiotik yang berasal dari bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih selama 5 hari setelah itu dilakukan pengambilan darah dan diperiksa kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok ini. Hasil pemeriksaan menunjukkan kelompok perlakuan mempunyai nilai rata-rata  $0,06 \pm 0,05$  ng/ml.

Hasil yang didapat dari kelompok perlakuan menunjukkan bahwa terjadinya penurunan jumlah TNF-  $\alpha$  pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulawati (2012) tentang penurunan kadar TNF- $\alpha$  setelah pemberian bakteri isolat dadih *Pediococcus pentosaceus* pada inflamasi tikus diare.

Perubahan tanda klinis yang paling terlihat pada pemberian bakteri *Pediococcus pentosaceus* hari ke 5 adalah mulai hilangnya *Chromodacryorrhea* pada sekeliling mata tikus, dimana sebelumnya jelas terlihat pada kelompok perlakuan.

Penurunan kadar TNF- $\alpha$  setelah pemberian bakteri probiotik memiliki mekanisme kerja yang belum diketahui dengan pasti, tetapi terdapat beberapa mekanisme yang tampaknya berperan dalam pengobatan penyakit periodontal yakni:

1. Bakteri probiotik mensekresikan 2 jenis bakteriosin yakni *reuterin* dan *reutericyclin* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen; Penelitian yang dilakukan oleh Stamatova, dkk (2007) dan Koll-Klais, dkk (2005) dalam Barlow (2010) menyebutkan bahwa *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacilli strains* mampu menghambat



pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* sampai 82% dan mampu menghambat efek patogen yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

2. Bakteri probiotik memiliki kemampuan untuk bersaing dengan bakteri patogen.
3. Bakteri probiotik memiliki efek anti-inflamasi yang dapat menghambat sekresi sitokin pro inflamasi. Ketiga mekanisme ini memiliki efek langsung dan tidak langsung terhadap penyembuhan penyakit periodontal (Bonifait dkk, 2009).

Efek probiotik terhadap penurunan sekresi sitokin pro inflamasi berhubungan dengan menurunnya aktifitas *Nuclear factor kB* (NFkB) (mekanisme pastinya masih belum diketahui). Hal ini sesuai dengan penelitian Kusuma dkk, 2008 mengenai efek suplementasi *Lactobacillus* strain LIS10506 atau LIS20506 yang dapat menghambat aktivitas NFkB dan secara signifikan menghambat ekspresi TNFR 1 (yang mempunyai kesetaraan nilai dengan TNF- $\alpha$ ).

Penelitian lainnya yang mendukung adalah penelitian yang dilakukan Shadnough dkk, 2013 mengenai pengaruh *Lactobacillus paracasei* B 20160 terhadap kadar sitokin pro dan anti inflamasi. Dengan hasil terdapat hubungan multidimensional antara NFkB dan sitokin pro inflamasi. Ketika sitokin pro inflamasi mengalami peningkatan maka juga dapat meningkatkan aktifitas NFkB, kemudian NFkB berpengaruh positif terhadap ekspresi sitokin seperti TNF- $\alpha$  sendiri yang dapat memperburuk inflamasi. NFkB merupakan faktor

transkripsi yang mempunyai peran penting dalam kondisi radang khususnya sekresi sitokin inflamasi.

## **6.2 Keterbatasan Penelitian**

1. Penelitian ini baru mempelajari tahap awal dari inflamasi periodontal. Penelitian dengan desain penelitian yang baru dan pemeriksaan lanjutan sangat dibutuhkan.
2. Pengambilan darah yang semula direncanakan melalui vena lingual tidak jadi dilaksanakan karena darah yang didapat tidak memenuhi untuk pemeriksaan ELISA



## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

#### 7.2 Saran

Setelah penulis menyelesaikan penelitian ini, penulis mempunyai saran yang dapat diaplikasikan untuk penyempurnaan penelitian sejenis ini kedepannya :

1. Merubah desain penelitian menjadi pre dan post karena setiap tikus mempunyai daya tahan terhadap stres yang berbeda-beda, sehingga kenaikan kadar TNF- $\alpha$  benar-benar disebabkan oleh perlakuan yang diberikan peneliti
2. Memberikan latihan kepada tikus kondisi pengambilan darah terutama kontrol negatif yang tidak pernah diberikan perlakuan apa-apa
3. Penelitian terhadap peningkatan sitokin pro inflamasi lain yang lebih spesifik seperti interleukin
4. Penelitian yang membandingkan antara kadar TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal tikus yang diberi dadih dan tidak diberi dadih
5. Penelitian yang membandingkan antara kadar sitokin pro dan anti inflamasi yang berkaitan dengan efektifitas dadih terhadap sitokin inflamasi

## KEPUSTAKAAN

- American College of Laboratory Animal Medicine Series, (2006). *The Laboratory Rat* 2nd. St. Louis, Saundres- Elsevier
- Amin, M.N., Sari, D.S., Meilawaty, Z (2010). Prospek Probiotik dalam Pencegahan Agresifitas Resorpsi Osteoklastik Tulang Alveolar yang Diinduksi Lipopolisakarida (LPS) pada Penyakit Periodontal. *Dent J*. Vol 15, No. 2, 2010: 150-153
- Asviandri (2013). *Pengaruh Pemberian *Pediococcus pentosaceus* Isolat Dadih terhadap Frekuensi Buang Air Besar, Kadar secretory Immunoglobulin A dan Tinggi Vili Ileum pada Mencit Diare yang diinduksi Enteropathogenic *E.Coli**. Tesis Pasca Sarjana. UNAND. Padang.
- Baker, dkk (2000). Genetic control of susceptibility to *Porphyromonas gingivalis* induced alveolar bone loss in mice. *ASM J Infect. Immun.* Vol 68 No.10
- Baratawidjaja (2006). *Imunologi Dasar*. Balai penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- Barlow, Janine (2010). The Use of Probiotics for Oral Health. *The clinical use of probiotik* page 36-39
- Bonifait, dkk (2009). Probiotics for Oral Health: Myth or Reality?. *JCDA*. October 2009, Vol. 75, No. 8
- Boyce dkk (2005). TNF- $\alpha$  and pathologic bone resorption. *Keio J Med* 2005;54(3):127-131
- Carranza FA, Camargo PM (2006) *Etiology of periodontal disease* , In: Newman MG, Takei HH, Klokkevol PR, Caranza FA (eds) *Clinical Periodontology*, 10th edition, St. Louis, Saundres- Elsevier, , p: 160.
- Charles M.Cobb, Charles M\* (2008). Microbes, Inflammation, Scaling and Root Planning, and the Periodontal Condition. *JDH/ADH*
- Chatterjee, Anirban, Bhattacharya, Hirak, Kandwal, Abhishek (2010). Probiotics In Periodontal Health and Disease.  
Diunduh dari : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3134041/>
- Cochran DL (2008). Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodont* 2008;79 (8):1569-76



- Dahlan, sopiyudin (2004) *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. Penerbit Salemba Medika. Jakarta
- Denis, FK (2000). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodont J* 2000;25 8-20
- Eley dkk (2010). *Periodontics*, 6<sup>th</sup> Edn. Elsevier. British
- Erica dkk (2000). Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *J Periodont*. 2000;14:112-43
- Fauziah, & Herawati, D (2008). Aplikasi Subgingiva Gel Metronidasol 25% Sebagai Bahan Tambahan pada Scaling dan Root Planning. *Maj, Ked, Gi*. 15(2): 183- 186
- Galvao, dkk (2003). Methodological considerations on descriptive studies of induced periodontal disease in rats. *Pesquisa odontol brasil*. Vol. 17 No.1 Sao Paulo Jan./Mar. 2003
- Gursoy UK, Könönen E, Uitto VJ (2008). Stimulation of epithelial cell matrix metalloproteinase (MMP-2, -9, -13) and interleukin-8 secretion by fusobacteria. *Oral Microbiol Immunol J* ;23:432-434.
- Joseph, Shiny (2014). Probiotics in Periodontal Diseases. *IOSR-JDMS*. Volume 13, Issue 3 Ver. IV.
- Kayal, A Kayyan (2013). The role of osteoimmunology in periodontal disease. Hindawi Publishing Corporation. *Biomed Research Int*. Volume 2013
- Kemenkes (2012). *Profil Data Kesehatan Indonesia Tahun 2011*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal. 154
- Kobayashi Kanichiro dkk (200). Tumor necrosis factor  $\alpha$  stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the odf /Rank1–Rank interaction. *J Exp Med* 2000 ;191(2):275-86
- Kosasih, Maulidia, Linda (2013). Tingkat konsistensi limbah tekstil batik tanpa melalui proses IPAL terhadap *Daphnia Magma*. *UPI press*
- Kusmiati dan malik (2002). Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc Mesenteroides* Pbac1 Pada Berbagai Media. *JMakara kesehatan*, vol. 6, no. 1, Juni 2002
- Kusuma, dkk (2008). Kemampuan dari *Lactobacillus plantarum* galur IS-10506 dan IS-20506 dalam menghambat aktivasi NFkB, meregulasi turun TNF-



- receptor 1 (TNF-R1) dan apoptosis pada brush sel epitel border Rattus norvegicus yang diinduksi LPS. *J Kedokt Brawijaya* 2008;24:22-9.
- Kusumawardani, dkk (2010). Uji biokimiawi sistem API 20 A mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. *J PDGI*. Vol. 59, No. 3, September-Desember 2010, Hal. 110-114
- Kusumawardani (2012). *Dampak infeksi Porphyromonas gingivalis pada jaringan periodontal maternal terhadap pertumbuhan janin*. Disertasi. Program Doktor Ilmu Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.
- Liao, dkk (2013). Expression and distribution of TNF- $\alpha$  and PGE<sub>2</sub> of periodontal tissues in rat periodontitis model. *Asian pasific JTopmed* 2014 (214-216)
- Madrigal, dkk (2002). The Increase in TNF- $\alpha$  Levels Is Implicated NF- $\kappa$ B Activation and Inducible Nitric Oxide Synthase Expression in Brain Cortex after Immobilization Stress. *JNeuropsychopharmac* 2002 – vol. 26, no. 2. Elsevier science inc.
- Manson, J.D dan Eley, B.M (2012). *Buku ajar periodonti*. Hipokrates. Jakarta
- Mayer, dkk (2009). Anti-tumor necrosis factor-Alpha therapy and periodontal parameters in patients with rheumatoid arthritis. *J periodont*, Vol.80 No. 9
- Molon, dkk (2014). Evaluation of the host response in various models of induced periodontal disease in mice. *J Periodont*. Vol.85, No.3
- Mysak, dkk (2013). *Porphyromonas gingivalis : major periodopathogenic pathogen over view*. *JImmuno Hindawi Publishing corporation*. Volume 2014, 8 pages
- Naito, dkk (2011). Characterization of the *Porphyromonas gingivalis* conjugative transposon CTnPg1: determination of the integration site and the genes essential for conjugal transfer. *JMicrobiol* 157, 2022–2032
- Nitawati, dkk (2014). Respon Limfosit T Sitotoksik Pada Gingivitis Setelah Pemberian Kurkumin. *e-J Pustaka Kes*, Vol. 2, No.1
- Notoatmodjo, Soekidjo (2010). *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rikena Cipta. Jakarta
- Oz, Helieh dan Puleo, David (2011). Animal models for periodontal disease. *JBiomed and Biotec*. Volume 2011. Hindawi Publishing corporation



- Permana, dkk (2013). Histomorphometrical Analysis of Coronary Atherosclerosis Lesions Formation in Rat (*Rattus norvegicus*) Model. *J Dent Ind* 2013, Vol. 20, No. 3, 73-77
- Purwanti, dkk (2011). *Buku Ajar Teknologi Dadih*. Cendekia Publishing House. Bogor
- Purwanti, dkk (2014). *Molekuler Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolate Dadih Air Dingin Kabupaten Solok Sumatera Barat*. Kumpulan penelitian dana Hi-Link Direktorat Jendral pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan Nasional. vol.40 No. 2, 15 Februari 2014 : 131-146
- Sari Tanjung R, Puruhita Niken (2012). Perbedaan kadar kolesterol ldl darah tikus sprague dawley pada Pemberian kopi filter dan tanpa filter. *J Nutt Coll* <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jnc/article/view/403>, diunduh pada 18 – 11- 2014
- Shadnoush, dkk (2013). Probiotic yogurt Affects Pro- and Anti-inflammatory Factors in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *IJPR*. 12 (4): 929-936
- Shah, dkk (2013). Evaluation of the effect of probiotic (Inersan®) Alone, Combination of Probiotic with Doxycycline and Doxycycline Alone on Aggressive Periodontitis – A Clinical and Microbiological Study. *J Clin Diag Research*. 2013 March, Vol-7(3): 595-600
- Thomas E, Kenneth .SK (2008). Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. *J Periodont* 2008 :79(8):1503-07
- Usmiati, Sri, Risfaheri (2012). Pengembangan Dadih Sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *J. Litbang Pert*. Vol 32 No. 1 Maret 2013: 20-29
- Usmiati, dkk (2011). *Karakteristik dadih susu sapi yang menggunakan strater bakteri probiotik*. Departemen Balai besar penelitian dan pengembangan pasca panen pertanian.
- Vivekananda, dkk (2010). Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Microbiol* 2010, 2: 5344
- Wahyukundari, M. A (2009). Perbedaan Kadar *Matrix Metall Oproteinas-8* Setelah *Scalling* dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontiti Kronis. *JPDGI*, 58 (1): 1-6
- Widyastuti, Ratih. (2009). Periodontitis: Diagnosis dan Perawatannya. *JITKG* vol.6 No.1

- Yan F dan Polk B (2002). Probiotic Bacterium Prevents Cytokine induced Apoptosis in Intestinal Epithelial Cells. *J Bio Chem* Vol. 277, No. 52
- Yendriwati, H (2008). Efek Antibakteri Sediaan Daun Sirih (*Piper Betle* Linn), Obat Kumur Minyak Essensial Dan Povidone Iodine 1% Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Dent J* 2008. Vol 13(2): 145-148
- Yuliawati, dkk (2012). The effect of *pediococcus pentosaceus* on stool frequency, TNF –  $\alpha$  level, Gut Microflora balance in Diarrhea – Induced Mice. The Indonesian *J Gastro hepato and digest endo*. Vol. 13; No2 Agustus 2012
- Yustina Ratri Ade, Dita Suar Ketut, Agustin Dian (2012) Peningkatan Jumlah Osteoklas pada peradangan periapikal akibat induksi lipopolisakarida *Porphyromonas Gingivalis*. *JBP* Vol. 14 No.3 September 2012



# Master Tabel

K	Nomor Sampel	Kadar TNF-a
		ng/ml
K-	1.1	0,076
K-	1.2	0,132
K-	1.3	0,115
K-	1.4	0,29
K-	1.5	0,32
K-	1.6	0,303
K-	1.7	0,295
	Total	1,53
	Rata-rata	0,22
	minimum	0,08
	Maksimum	0,32
	Standar Deviasi	0,11
K+	2.1	0,96
K+	2.2	0,287
K+	2.3	0,259
K+	2.4	0,303
K+	2.5	0,143
K+	2.6	0,137
K+	2.7	0,126
	total	2,215
	rata-rata	0,32
	minimum	0,13
	Maksimum	0,96
	Standar Deviasi	0,29
p	3.1	0,079
p	3.2	0,076
p	3.3	0,065
p	3.4	0,032
p	3.5	0,01
p	3.6	0,018
p	3.7	0,151
	Total	0,431
	Rata-rata	0,062
	minimum	0,010
	Maksimum	0,151
	Standar Deviasi	0,05



No: 006/KEP/FK/2015

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**ETHICAL CLEARANCE**

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:

*The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:*

**“Pengaruh bakteri *Pediococcus pentosaceus* isolat dadih dalam menurunkan jumlah TNF- $\alpha$  pada inflamasi jaringan periodontal yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*”**

**(Penelitian Eksperimental laboratoris pada Sprague-dawley rats)**

Nama Peneliti Utama : Corrina Heparti Novsyiami  
*Name of the Investigator*

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas  
*Name of Institution*

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.  
*and recommended the above research protocol.*

Padang, 29 Januari 2015

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas  
*Dean of Faculty of Medicine Andalas University*

Ketua  
*Chairperson*

Dr. dr.H. Masrul, MSc, Sp.GK  
NIP. 1956 1226 1987 101 001



Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)  
NIP. 1953 1109 1982 112 001





**SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM**

No: 020/H16.2/Lab.Biomedik/2015

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof.Dr.dr.Hj.Yanwirasti, P.A  
Jabatan : Ketua Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran  
Universitas Andalas Padang

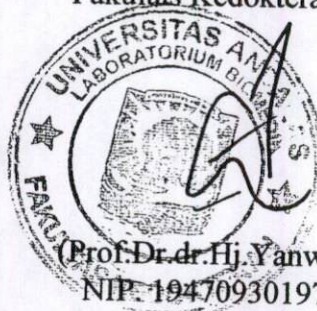
Menerangkan bahwa :

Nama : Corrina Heparti Novsyiami  
Instansi : FKG UNAND

Telah melakukan penelitian dengan judul **"Pengaruh Bakteri *Pediococcus Pentasaceus* Isolat Dadih Dalam Menurunkan Jumlah  $TNF-\alpha$  pada Tikus Peridontitis yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas Gangivalis*"** dengan menggunakan metoda ELISA sesuai dengan sampel yang telah kami terima dan telah menyelesaikan semua administrasi terkait di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Demikian surat keterangan ini saya buat dan dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Padang, 15 April 2015  
Ketua Laboratorium Biomedik  
Fakultas Kedokteran UNAND



(Prof.Dr.dr.Hj.Yanwirasti, P.A)  
NIP. 194709301973032001

Lampiran : Foto Penelitian



Gambar 1. Tikus dalam kondisi aklimatisasi



Gambar 2. Suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis*



Gambar 3. Bakteri *Pediococcus pentosaceus*

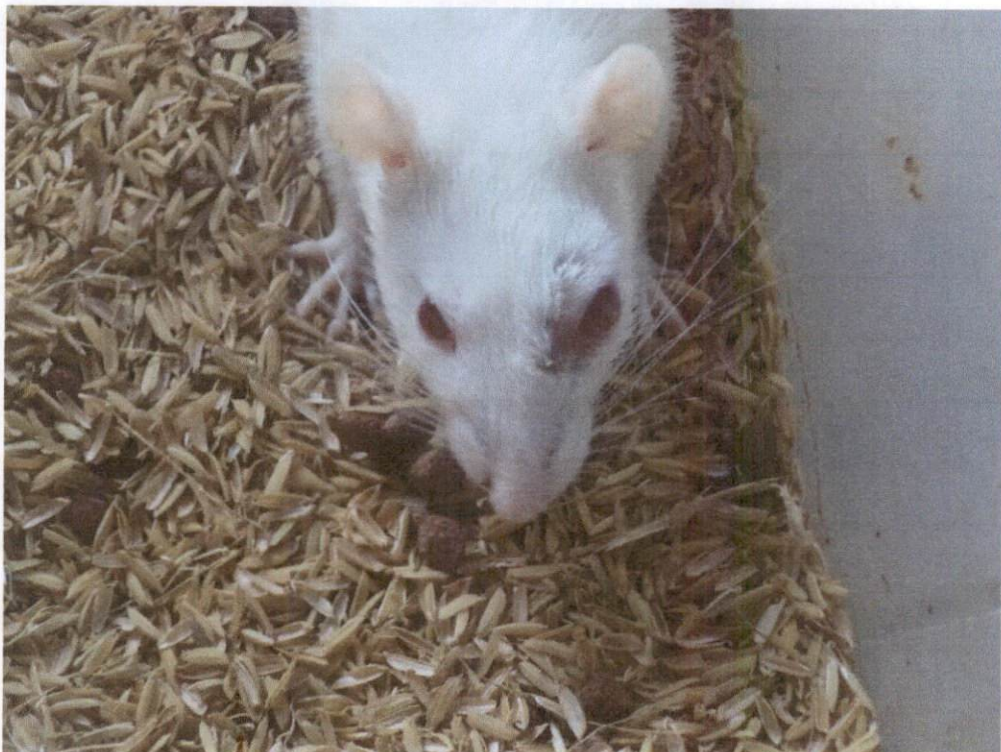


Gambar 4. Proses pembiusan dengan kloroform





Gambar 5. Proses Injeksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*



Gambar 6. *Chromodacryorrhea* yang terjadi pada tikus coba



Gambar 7. Proses pemasukan bakteri  
*Pediococcus pentosaceus*

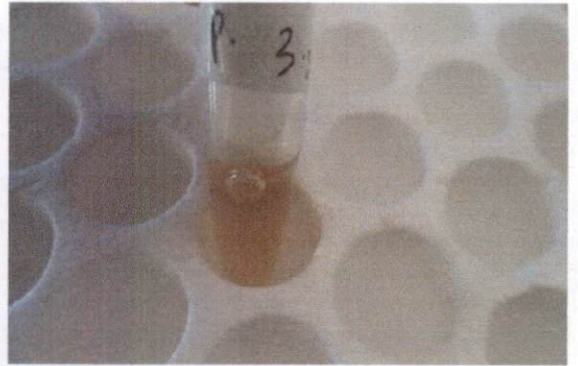


Gambar 8. Proses pengambilan darah pada tikus





Gambar 9. Darah tikus yang telah diambil



Gambar 10. Serum yang telah berhasil dipisahkan



Gambar 11. Pemeriksaan TNF -  $\alpha$

```
EXAMINE VARIABLES=Nilai BY Kelompok
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT
/COMPARE GROUP
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.
```

Explore

[DataSet1] D:\my project\Skripsi semangat\HASIL SPSS\data spss ulangan.sav

Kelompok

Case Processing Summary

Kelompok		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Nilai	Kelompok Kontrol negatif	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
	Kelompok Kontrol Positif	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
	Kelompok Perlakuan	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%

Descriptives

Kelompok			Statistic	Std. Error
Nilai	Kelompok Kontrol negatif	Mean	.21871	.039913
		95% Confidence Interval for Mean	.12105	
		Lower Bound	.31638	
		Upper Bound	.22102	
		5% Trimmed Mean	.29000	
		Median	.011	
		Variance	.105599	
		Std. Deviation	.076	
		Minimum	.320	
		Maximum	.244	
		Range	.188	
		Interquartile Range	-.442	
		Skewness	-2.388	.794
		Kurtosis		1.587
	Kelompok Kontrol Positif	Mean	.31643	.110955
		95% Confidence Interv[] Lower Bound	.04493	



### Descriptives

Kelompok				Statistic	Std. Error
Nilai	Kelompok Kontrol Positif	95% Confidence Interval	Upper Bound	.58793	
		5% Trimmed Mean		.29125	
		Median		.25900	
		Variance		.086	
		Std. Deviation		.293560	
		Minimum		.126	
		Maximum		.960	
		Range		.834	
		Interquartile Range		.166	
		Skewness		2.291	.794
		Kurtosis		5.585	1.587
	Kelompok Perlakuan	Mean		.06143	.018205
		95% Confidence Interval	Lower Bound	.01688	
		for Mean	Upper Bound	.10597	
		5% Trimmed Mean		.05931	
		Median		.06500	
		Variance		.002	
		Std. Deviation		.048166	
		Minimum		.010	
		Maximum		.151	
		Range		.141	
		Interquartile Range		.060	
		Skewness		1.008	.794
		Kurtosis		1.172	1.587

### Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai	Kelompok Kontrol negatif	.322	7	.027	.805	7	.045
	Kelompok Kontrol Positif	.375	7	.003	.674	7	.002
	Kelompok Perlakuan	.223	7	.200 <sup>*</sup>	.905	7	.363

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

Nilai

### Stem-and-Leaf Plots

Nilai Stem-and-Leaf Plot for

```

EXAMINE VARIABLES=Transformasi_Nilai BY Kelompok
/PLOT BOXPLOT STEMLEAF NPLOT
/COMPARE GROUP
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/CINTERVAL 95
/MISSING LISTWISE
/NOTOTAL.

```

## Explore

[DataSet1] D:\my project\Skripsi semangat\HASIL SPSS\data spss ulangan.sav

## Kelompok

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Transformasi_Nilai	Kelompok						
	Kelompok Kontrol negatif	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
	Kelompok Kontrol Positif	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%
	Kelompok Perlakuan	7	100.0%	0	.0%	7	100.0%

Descriptives

Kelompok				Statistic	Std. Error
Transformasi_Nilai	Kelompok Kontrol negatif	Mean		-.7170	.09678
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.9538	
			Upper Bound	-.4802	
		5% Trimmed Mean		-.7070	
		Median		-.5376	
		Variance		.066	
		Std. Deviation		.25605	
		Minimum		-1.12	
		Maximum		-.49	
		Range		.62	
		Interquartile Range		.42	
		Skewness		-.684	
		Kurtosis		-1.541	
		Kelompok Kontrol Positif	Mean		
	95% Confidence Interv		Lower Bound	-.8948	



### Descriptives

Kelompok				Statistic	Std. Error
Transformasi_Nilai	Kelompok Kontrol Positif	95% Confidence Interv[]	Upper Bound	-.3260	
		5% Trimmed Mean		-.6272	
		Median		-.5867	
		Variance		.095	
		Std. Deviation		.30752	
		Minimum		-.90	
		Maximum		-.02	
		Range		.88	
		Interquartile Range		.34	
		Skewness		1.252	.794
		Kurtosis		1.779	1.587
		Kelompok Perlakuan	Mean		-1.3535
	95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	-1.7344	
			Upper Bound	-.9727	
	5% Trimmed Mean			-1.3472	
	Median			-1.1871	
	Variance			.170	
	Std. Deviation			.41179	
	Minimum			-2.00	
	Maximum			-.82	
	Range			1.18	
	Interquartile Range			.64	
	Skewness			-.500	.794
	Kurtosis		-.754	1.587	

### Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Transformasi_Nilai	Kelompok Kontrol negatif	.330	7	.021	.814	7	.056
	Kelompok Kontrol Positif	.240	7	.200 <sup>*</sup>	.855	7	.138
	Kelompok Perlakuan	.228	7	.200 <sup>*</sup>	.945	7	.685

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

## Transformasi\_Nilai

## Stem-and-Leaf Plots

Transformasi\_Nilai Stem-and-Leaf Plot for

```
ONEWAY Transformasi_Nilai BY Kelompok
/STATISTICS HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=LSD ALPHA(0.05) .
```

Oneway

[DataSet1] D:\my project\Skripsi semangat\HASIL SPSS\data spss ulangan.sav

Test of Homogeneity of Variances

Transformasi\_Nilai

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.115	2	18	.350

ANOVA

Transformasi\_Nilai

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.261	2	1.130	10.285	.001
Within Groups	1.978	18	.110		
Total	4.239	20			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Transformasi\_Nilai  
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
Kelompok Kontrol negatif	Kelompok Kontrol Positif	-.10663	.17720	.555
	Kelompok Perlakuan	.63653*	.17720	.002
Kelompok Kontrol Positif	Kelompok Kontrol negatif	.10663	.17720	.555
	Kelompok Perlakuan	.74316*	.17720	.001
Kelompok Perlakuan	Kelompok Kontrol negatif	-.63653*	.17720	.002
	Kelompok Kontrol Positif	-.74316*	.17720	.001

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



### Multiple Comparisons

Transformasi\_Nilai  
LSD

		95% Confidence Interval	
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Lower Bound	Upper Bound
Kelompok Kontrol negatif	Kelompok Kontrol Positif	-.4789	.2657
	Kelompok Perlakuan	.2642	1.0088
Kelompok Kontrol Positif	Kelompok Kontrol negatif	-.2657	.4789
	Kelompok Perlakuan	.3709	1.1154
Kelompok Perlakuan	Kelompok Kontrol negatif	-1.0088	-.2642
	Kelompok Kontrol Positif	-1.1154	-.3709

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.